

# ANNALES

DE

# L'INSTITUT PASTEUR

---

## LE MICROBE DE L'AGALAXIE CONTAGIEUSE DU MOUTON ET DE LA CHÈVRE

par

J. BRIDRÉ,

et

A. DONATIEN,

chef de Laboratoire  
à l'Institut Pasteur de Paris,

chef de Laboratoire  
à l'Institut Pasteur d'Algérie.

Les tentatives bactériologiques et histologiques de divers auteurs pour mettre en évidence le microbe de l'agalaxie contagieuse étaient restées infructueuses. Hess et Guillebeau [1], Oreste et Marcone [2], Bournay et Leclainche [3], Celli et de Blasi [4], H. Carré [5], Sergent et Roig [6], ont reconnu qu'aucun microbe isolé des lésions n'était capable de reproduire la maladie. Les travaux de Celli et de Blasi, confirmés par Carré, en montrant que le microbe traverse certains filtres (bougies Berkefeld, Silbersmith), avaient d'ailleurs réduit à néant le rôle spécifique des microbes isolés jusque-là.

Les recherches que nous allons rapporter, commencées en 1923, ont été plus heureuses; la culture *in vitro* du virus agalactique a été réalisée et cette culture nous a permis de décrire le microbe — « filtrable », mais non invisible — de l'agalaxie contagieuse [7].

A l'époque où Carré publiait son mémoire (1912), l'agalaxie contagieuse n'était connue qu'en Europe. Ce n'est qu'en 1917 que Edm. Sergent et G. Roig ont fait connaître leurs recherches faites neuf ans plus tôt à la faveur d'une petite épizootie qui sévissait sur un troupeau de chèvres des environs d'Alger. Depuis, aucune observation nouvelle n'ayant été rapportée, il était encore permis de penser que l'épizootie de 1908, dont l'origine était restée inconnue, avait eu pour cause l'introduction, dans le troupeau, d'un animal malade nouvellement importé, et l'Algérie pouvait être considérée comme indemne. Pourtant, au cours de l'été 1923, la maladie a été reconnue sur des moutons achetés par l'Institut Pasteur d'Algérie et confirmée par l'inoculation de liquide d'arthrite à des chèvres en lactation. C'est le virus recueilli sur ces moutons qui nous a servi dans nos premières expériences.

Du liquide d'arthrite spécifique, prélevé chez un mouton, fut dilué immédiatement dans la proportion de 3 p. 100 environ dans de l'eau physiologique citratée à 4 p. 100. Cette dilution virulente servit à ensemercer divers milieux liquides. Après huit jours de séjour à l'étuve à 37°, une culture était évidente dans quelques tubes renfermant du bouillon-sérum (bouillon de mouton, 2 à 4 parties + sérum de cheval tyndallisé, 1 partie). L'examen microscopique ne révélait la présence d'aucun microbe banal. Partant de cette première culture, des ensemencements furent pratiqués en série. Le développement du germe était de plus en plus précoce à mesure que cette série s'allongeait. Les preuves de la culture en série furent fournies par les expériences suivantes : 1° L'inoculation de 0 c. c. 5 de la septième culture dans l'articulation du genou d'un mouton provoqua l'apparition d'une arthrite en quatre jours ; 2° l'inoculation sous-cutanée de 1 cent. cube de la même culture à une chèvre laitière détermina, huit jours plus tard, une mammite spécifique ; une chèvre témoin, qui avait reçu en même temps du virus frais (lait) sous la peau, présenta de la mammite dans le même délai.

Enfin, après l'essai de diverses méthodes de coloration, nous pûmes voir, dans un étalement de la dixième culture coloré par la méthode de Giemsa, l'agent de la maladie sous la forme d'un très fin microbe rappelant le microbe de la péripneumonie.



En possession d'un virus pur, facile à cultiver, nous avons entrepris l'étude du nouveau germe. Nous donnons, dans ce mémoire, les résultats acquis jusqu'ici de cette étude encore incomplète.

### Le microbe.

ISOLEMENT. — Ainsi qu'on vient de le voir, le microbe peut être isolé du liquide d'arthrite spécifique ; il peut l'être aussi du lait ou des ganglions qui drainent la lymphe des organes lésés.

Si le prélèvement est fait au laboratoire, c'est-à-dire dans de bonnes conditions d'asepsie, l'ensemencement direct en bouillon-sérum donne généralement une culture pure. Il n'en est pas toujours de même de l'ensemencement d'un produit recueilli au dehors ; mais il est facile alors de séparer les germes par filtration. Celle-ci est pratiquée selon la technique qui sera indiquée plus loin (v. FILTRATION), soit en partant directement du produit pathologique, soit en partant d'une culture impure. (Il arrive, par exemple, qu'un lait virulent renferme de rares microcoques qui, après ensemencement, se multiplient en même temps que le microbe de l'agalaxie. Le liquide filtré renferme uniquement ce dernier germe).

CULTURE. — A. *En milieux liquides.* — Le bouillon simple ne convient pas à la culture, mais il suffit d'une faible proportion de sérum dans le milieu pour que le microbe puisse se développer.

Le bouillon-sérum dans lequel la proportion de sérum est de  $1/10$  à  $1/5$  est particulièrement favorable. A  $1/20$ , la culture est moins riche. Il y a un léger retard lorsque la proportion atteint  $4/5$  et un retard plus marqué si elle atteint  $9/10$ . Il n'y a pas de culture apparente dans le *sérum pur*.

Les sérums de mouton, de chèvre, de cheval et de bœuf peuvent être employés indifféremment. Les sérums d'âne, de lapin et d'homme conviennent également.

*Les dilutions de sérum* dans l'eau physiologique ne fournissent pas de culture.

Le bouillon de culture peut être préparé soit avec de la peptone Martin, soit avec des peptones du commerce.

*L'eau peptonée additionnée de sérum* est un milieu conve-

nable; mais, dans ce cas, il est préférable d'employer la peptone Martin, qui donne des cultures plus riches et plus précoces que les peptones du commerce. Le milieu : peptone Martin 2 parties + sérum 1 partie, fournit une culture en vingt-quatre heures. Si la proportion de sérum est de  $\frac{1}{4}$  ou de  $\frac{1}{2}$ , la culture est retardée. La proportion de  $\frac{1}{10}$  de sérum est insuffisante.

L'addition de certains sucres, tels que : *glucose*, *lévulose*, *galactose*, *raffinose*, *arabinose*, *xylose*, *saccharose*, *maltose*, a pour effet de retarder légèrement la croissance du germe. Il en est de même de l'addition de *glycérine* (1 à 2 p. 100). Au contraire, le *lactose* (1 à 2 p. 100), la *mannite* (1 p. 100), l'*érythrite* (1 p. 100), l'*extrait globulaire* (2 p. 100), favorisent la culture. Le mélange : eau peptonée Chapoteaut à 3 p. 100, 4 parties + sérum de cheval 1 partie, + lactose 1 p. 100, constitue un bon milieu.

Dans le bouillon additionné de liquide péricardique, la culture est un peu moins riche qu'en bouillon-sérum.

Le bouillon additionné de sérum d'animal hyperimmunisé est aussi favorable à la culture que celui qui est additionné de sérum normal.

Le *lait* de vache ou de chèvre est un bon milieu et aucun changement apparent ne révèle le développement du germe.

On n'observe dans ces cultures liquides aucune modification de réaction appréciable au tournesol.

La culture en eau peptonée + sérum ne produit pas d'indol.

*Caractères des cultures en bouillon-sérum.* — Lorsque l'ensemencement a été fait au moyen d'un produit naturel, on ne constate de trouble du milieu qu'après trois ou quatre jours de séjour à l'étuve à 37°, trouble léger qui n'est bien visible qu'en présence d'un tube vierge témoin. Puis le trouble s'accuse, l'agitation fait apparaître des ondes dans le milieu. Après un certain nombre de repiquages, le développement est plus rapide et les cultures plus riches. Diverses souches entretenues depuis deux ans fournissent une culture apparente en moins de vingt-quatre heures et d'une richesse telle que le trouble du milieu est visible, sans tube témoin, pour l'œil le moins exercé. Après quelques jours, un léger dépôt se forme au fond des tubes sans que le milieu s'éclaircisse.



Les cultures *anaérobies* présentent les mêmes caractères.

B. *Milieu solide*. — La gélose-sérum convient très bien à la culture du microbe de l'agalaxie.

L'étalement d'une petite quantité de culture à la surface d'un tube de gélose-sérum fait apparaître, après trois ou quatre jours d'étuve, de très petites colonies transparentes, à peine visibles à l'œil nu. Puis, ces colonies grandissent, atteignent 4 millimètre de diamètre et perdent en partie leur transparence. Elles adhèrent fortement à la gélose. L'examen des cultures à un faible grossissement montre que les colonies sont incrustées dans le milieu et n'offrent à la surface qu'une légère saillie. Vues de face, elles présentent une sorte de mamelon opaque entouré d'une zone plus claire. C'est exactement la forme en clou des colonies de péripneumonie [8 et 9].

COLORATION. CARACTÈRES MICROSCOPIQUES. — Le microbe est facilement mis en évidence de la façon suivante : étalement sur lame d'une goutte de culture récente en bouillon-sérum ; après dessiccation, fixation à l'alcool pendant cinq minutes ; coloration au colorant de Giemsa (3 gouttes pour 2 cent. cubes d'eau distillée neutralisée) pendant une heure. Lavage à l'eau.

L'examen microscopique de la préparation montre un très fin microbe coloré en violet et de formes variées : les éléments longs, ondulés, spirochétéoïdes, ont de 2 à 5  $\mu$  de longueur (fig. 4) ; quelques-uns atteignent 15  $\mu$  et plus (fig. 2 et 3) ; les courts, plus ou moins incurvés, ont l'apparence de vibrions ou affectent une forme annulaire. Certaines unités présentent à une extrémité un granule fortement coloré. D'autres offrent un aspect granuleux dans toute leur longueur. A mesure que les cultures vieillissent, les formes longues deviennent plus rares et les granules plus nombreux. On retrouve, en un mot, chez ce microbe, tous les caractères morphologiques décrits par Bordet [10], puis par Borrel, Dujardin-Beaumetz, Jeantet et Jouan [11] chez le microbe de la péripneumonie.

L'étude microscopique directe de la culture ne permet pas de reconnaître la forme des éléments microbiens agités de mouvements browniens.

A l'ultra-microscope, l'aspect granuleux des éléments microbiens s'accuse et on a véritablement l'impression d'une chaî-

nette de petits cocci réunis dans une gangue. Des mouvements de brusque détente, comparables à ceux d'une larve de moustique dans l'eau, nous avaient fait croire d'abord à la mobilité du microbe, mais des examens plus approfondis nous ont amené à une opinion opposée. Nous n'avons pu constater aucun mouvement de translation, mais seulement un mouvement brownien. Le microbe de l'agalaxie doit être considéré comme immobile.

*Les colorants usuels* ne donnent que de médiocres résultats. La méthode de *surcoloration* employée par Borrel, Dujardin-Beaumetz, Jeantet et Jouan donne avec le microbe de l'agalaxie les mêmes figures qu'avec le microbe de la péripneumonie.

Dans les produits pathologiques — liquide d'arthrite, lait — le microbe peut être mis en évidence par la coloration, mais seulement pour un œil très exercé et il serait imprudent de baser un diagnostic sur un tel examen.

**FILTRATION.** — On savait par les expériences de Celli et de Blasi et de Carré que le microbe de l'agalaxie traverse les bougies Berkefeld et Silbersmith. Nos expériences de filtration ont porté sur les bougies Chamberland L 1 *bis* et L 2.

On peut avoir à filtrer une dilution de virus frais ou une culture impure. Lorsqu'on fait passer à travers la bougie L 1 *bis* un liquide virulent et qu'on ensemence le liquide filtré dans du bouillon-sérum, le milieu reste souvent stérile. Au contraire, on obtient, à coup sûr, une culture, en suivant la technique employée par Dujardin-Beaumetz pour la péripneumonie. La bougie est montée sur l'appareil Martin. Dans du bouillon porté à 37° (80 cent. cubes), on ajoute 1 cent. cube de culture ou de liquide virulent. Le mélange est versé presque en totalité dans l'entonnoir de la bougie. On fait un vide de 20 à 25 centimètres de mercure. Lorsque la dilution a passé presque complètement, on verse 10 à 20 cent. cubes de sérum de cheval, puis, après passage du sérum, le reste de la dilution virulente. On fait rentrer l'air; on retire la bougie de l'appareil; le récipient qui renferme le filtrat est bouché au coton stérile et porté à l'étuve à 37°. Le trouble annonçant la culture apparaît au bout de trois ou quatre jours.

La même opération pratiquée avec la bougie L 2 donne un filtrat stérile.



Cette propriété du microbe de l'agalaxie de traverser dans les conditions exposées la bougie Chamberland L 4 bis rend l'isolement du germe extrêmement facile.

CARACTÈRES BIOLOGIQUES. — La culture du microbe de l'agalaxie se fait entre 24° et 41°5, en présence ou à l'abri de l'air. La température optima est de 37°.

En cultures aérobies laissées à la température de l'étuve, les germes ont généralement perdu au bout d'un mois la faculté de se reproduire. Mais les cultures anaérobies ou les cultures aérobies mises en tubes scellés ou recouvertes d'huile de vaseline, sont encore vivantes après un séjour de vingt-deux mois à l'étuve à 37°. La limite de leur résistance à cette température n'est pas établie. La vitalité du microbe est moins grande lorsqu'il séjourne à une température moins élevée. Ainsi, des ampoules renfermant une culture âgée de quelques jours, étant placées par lots : 1° à la glacière à 0° ; 2° à la glacière à 6°-12° ; 3° à l'étuve à 25° ; 4° à l'étuve à 37°, une ampoule de chaque lot estensemencée tous les mois. Après cinq mois, l'ensemencement pratiqué avec les ampoules des trois premiers lots reste stérile.

L'addition de sérum de cheval à la culture placée dans les conditions ci-dessus n'augmente pas sensiblement sa vitalité. Le sérum de mouton semble être un peu plus favorable. Un mélange renfermant 1 partie de culture pour 2 parties de sérum de mouton, placé en tubes scellés aux deux glacières, a été réensemencé avec succès au bout de cinq mois. Mais ce mélange est tué, dans les deux glacières, après six mois et vingt jours.

Dans l'appareil frigorigène, dont la température varie entre — 5° et — 12°, les cultures conservées en ampoules sont encore vivantes après quatre mois, mais sont tuées au bout de cinq mois.

Le virus agalactique résiste à 50° pendant une heure trente minutes. Il résiste sept minutes trente secondes à la température de 53° ; mais il est tué à cette température au bout de dix minutes. Pour des raisons qui seront exposées plus loin (v. AGALAXIE et CLAVELÉE), les expériences qui nous permettent de donner ces précisions ont été faites dans les conditions suivantes : une culture d'agalaxie était mélangée à du claveau glycérimé ou bien à du sérum normal et à de la glycérine dans

les proportions de 10 cent. cubes de culture pour 30 cent. cubes de sérum et 20 cent. cubes de glycérine. Le mélange était réparti en tubes scellés qui étaient portés à la température voulue pendant un temps variable.

L'étude de l'action des antiseptiques n'a encore été qu'effleurée. Nous pouvons dire seulement que le sulfate de cuivre ajouté au milieu de culture dans la proportion de 1 p. 10.000 empêche la culture de l'agalaxie. A 1 p. 100.000, son action est nulle; le développement du germe apparaît aussi vite que dans le milieu normal. L'acide phénique manifeste son action antigénétique dans le milieu qui en renferme 1/1.000. La proportion de 1/20.000 est insuffisante pour entraver la culture.

Le formol, dont l'action n'a pas été étudiée d'une façon spéciale, agit d'autant plus rapidement sur la vitalité du microbe que la température du milieu est plus élevée. C'est ainsi que des essais de conservation du virus dans le sérum formolé de Legroux (méthode Truche) ont montré que le virus est détruit, dans ce milieu, en vingt-cinq jours à la température de 37°; en soixante-huit jours à 22°; en quatre mois seulement à la température de 8-12°.

**VIRULENCE.** — La virulence des cultures d'agalaxie est aussi grande que celle des produits pathologiques. Elle reste intacte pendant un grand nombre de repiquages. Elle se conserve aussi dans les vieilles cultures placées, à l'abri de l'air, à la température de 37°. Des cultures ayant séjourné à 37° pendant un an sont encore capables de donner l'agalaxie à la chèvre.

**AGGLUTINATION. PRÉCIPITATION.** — Plusieurs expériences d'agglutination du microbe par des sérums d'animaux agalactiques nous ont fourni des résultats variés et le taux d'agglutination de ces sérums n'est, en tous cas, que peu supérieur à celui des sérums normaux.

Des essais de précipitation (cultures filtrées sur bougie L2) ne nous ont donné aucun résultat.

**DÉVIATION DU COMPLÉMENT.** — Quelques expériences faites avec un système hémolytique composé de globules de mouton



et de sérum de cheval anti-mouton avaient abouti à des résultats contradictoires dus, vraisemblablement, à l'effet protecteur des sérums éprouvés sur les globules de mouton. Dans les expériences ultérieures, on employa comme système hémolytique des globules de bœuf et un sérum de lapin antibœuf. Ce sérum dilué à 1/800 dans une émulsion à 1/20 de globules de bœuf produisait l'hémolyse en trente-cinq à quarante minutes à l'étuve à 37°. L'hémolyse était complète en trente secondes, lorsque la proportion de sérum atteignait 1/500.

Les essais portèrent d'abord sur un sérum anti-agalactique préparé chez la chèvre. L'antigène était constitué par des cultures en bouillon-sérum (de cheval), âgées de une à deux semaines. L'alexine fraîche était employée à la dose minima. Dans ces conditions, le sérum anti-agalactique dévie le complément à la dose de 1/100 de cent. cube en présence de 0 c. c. 3 de culture. A la dose de 1/1.000 de cent. cube et après un séjour de trente minutes à l'étuve + seize heures au laboratoire, l'hémolyse est encore incomplète.

Des essais ont porté ensuite sur des sérums d'animaux malades. Les uns dévient le complément à la dose de 1/50, d'autres à la dose de 1/20 de cent. cube. Une chèvre, agalactique depuis six semaines, a fourni un sérum sans action à 1/20 de cent. cube, comme celui des chèvres neuves.

Les sérums qui dévient le complément dans les conditions ci-dessus, en présence d'une culture d'agalaxie, sont sans action en présence d'une culture de péricnemonie.

**ACTION PATHOGÈNE DES CULTURES.** — L'inoculation d'une culture pure du microbe de l'agalaxie a les mêmes conséquences que l'inoculation d'un produit virulent naturel.

Le mouton est moins sensible que la chèvre.

L'inoculation *sous-cutanée* de 0 c. c. 5 ou 1 cent. cube de culture au mouton ou à la chèvre détermine, du quatrième au septième jour, une réaction locale qui se traduit par une induration du volume d'une noisette au maximum et qui disparaît vers le quinzième jour. Puis, après une période d'incubation dont la durée varie entre une et quatre semaines, des localisations apparaissent : arthrites, kératites, etc. Chez les femelles en lactation, la première manifestation de l'infection est ordinai-

rement une altération du lait dans un quartier de la mamelle ou dans les deux à la fois. Le lait prend une teinte jaune, une saveur salée, puis devient purulent; la sécrétion diminue et se tarit. La maladie peut rester localisée à la mamelle ou provoquer les autres lésions spécifiques habituelles.

La chèvre en lactation est l'animal réactif par excellence. Chez elle, l'inoculation est à coup sûr positive, tant le virus manifeste de prédilection pour la mamelle en activité.

L'inoculation cutanée par *scarification* est souvent suivie d'une légère réaction locale (petite induration cutanée, phlyctène) et provoque les mêmes phénomènes que l'inoculation sous-cutanée.

L'inoculation *intraveineuse* est particulièrement sévère, surtout chez la chèvre laitière. Dans une expérience, sur trois chèvres inoculées avec 1 cent. cube d'une même culture, l'une sous la peau, les deux autres dans la jugulaire, ces deux dernières ont fait de l'agalaxie et sont mortes en huit et dix-neuf jours; la première seule a survécu après avoir présenté une forte réaction locale.

L'inoculation *intra-articulaire* occasionne une arthrite en deux à six jours. L'infection reste localisée au lieu d'inoculation ou frappe d'autres organes.

Chez le *bœuf*, l'inoculation sous-cutanée provoque une légère réaction locale ou reste sans effet.

#### AGALAXIE ET PÉRIPNEUMONIE.

Il existe chez les microbes de l'agalaxie et de la péripneumonie un grand nombre de caractères communs : 1° la morphologie est exactement semblable ; 2° les microbes poussent de la même façon dans le même milieu favorable, le bouillon-sérum ; 3° les colonies sur gélose-sérum sont identiques ; 4° les deux germes traversent dans les mêmes conditions les mêmes bougies filtrantes ; 5° leur résistance aux diverses températures est sensiblement la même (1).

(1) Dans sa thèse, Ed. Dujardin-Beaumetz écrit que les cultures de péripneumonie placées en tubes scellés peuvent se conserver dix mois et plus à la température de 10 à 15°, « alors qu'à la température de l'étuve elles sont difficilement réensemencées au bout d'un mois ». Ces constatations diffèrent de celles que nous avons faites sur le microbe de l'agalaxie. Mais cela



Les seules dissemblances que nous ayons observées sont les suivantes : l'une, insignifiante, une richesse plus grande des cultures d'agalaxie ; l'autre, plus importante, réside en ce que le microbe de l'agalaxie est cultivable dans le lait, alors que le microbe de la péripneumonie ne se développe pas dans ce milieu. (Nous devons dire toutefois que l'essai de culture de la péripneumonie dans le lait n'a porté que sur une seule souche de virus).

Ainsi les caractères morphologiques, culturels et biologiques des deux germes sont presque tous communs. Par contre, leur action pathogène est essentiellement différente. Le microbe de la péripneumonie n'est naturellement pathogène que pour l'espèce bovine, comme le microbe de l'agalaxie n'est réellement pathogène que pour les espèces caprine et ovine. S'agit-il d'une adaptation du même germe à des organismes différents ? C'est la question qui s'est posée depuis longtemps pour la variole, la vaccine et la clavelée et plus récemment pour le *M. melitensis* et le *B. abortus*. En ce qui concerne les deux germes qui nous occupent, les expériences d'immunisation croisée ne nous ont fourni que des résultats négatifs. L'inoculation de cultures d'agalaxie à des veaux ne les a pas protégés contre l'inoculation ultérieure de péripneumonie, pas plus que l'inoculation de cultures de péripneumonie n'a protégés des moutons et des chèvres contre l'inoculation du virus de l'agalaxie (1). On a vu plus haut que la culture de péripneumonie ne peut servir d'antigène vis-à-vis d'un sérum qui dévie le complément en présence d'une culture d'agalaxie. Il s'agit donc de deux germes différents, appartenant à un même groupe prévu par Borrel, Dujardin-Beaumetz, Jeantet et Jouan lors-

tient sans doute au milieu de culture employé et peut-être aussi à la souche du virus. Ainsi, nous avons pu, dernièrement, repiquer avec succès une culture de péripneumonie conservée depuis cinq mois sous huile de vaseline à l'étuve à 37°.

(1) Ces expériences d'immunisation croisée nous ont fourni l'occasion de constater la grande résistance des bovins algériens vis-à-vis de la péripneumonie. La plupart des inoculés ont à peine réagi localement. Un seul a présenté une tumeur du volume du poing. Un bovin français, inoculé avec de la sérosité prélevée dans la tumeur, présenta une réaction énorme et succomba en trente-six jours. Une culture obtenue avec cette sérosité fut inoculée, à la dose de 0 c. c. 1, sous la peau de l'oreille de deux veaux français et d'une génisse algérienne. Les deux premiers firent une réaction locale avec sensibilité à la pression des doigts ; la génisse resta indemne.

qu'ils écrivaient au sujet du microbe de la péripneumonie : « Il est difficile en l'état actuel de le comparer à d'autres types puisqu'il est le seul connu de son espèce, mais on peut déjà prévoir qu'il ne restera pas isolé dans ce groupe et l'un de nous pense que certaines formes vues dans les cellules vaccinales, varioleuses, claveleuses, s'expliquent très bien par certaines formes décrites ci-dessus ». Ces auteurs ne pensaient certes pas à l'agalaxie et il est possible que d'autres germes inconnus viennent grossir le nouveau groupe qui compte aujourd'hui deux éléments.

#### AGALAXIE ET CLAVELÉE.

Il ne s'agit pas ici, comme dans le chapitre précédent, d'une comparaison entre deux germes, mais de l'action que l'un des virus peut exercer sur l'autre dans certaines conditions.

La préparation du vaccin anticlaveleux sensibilisé de Bridré et Boquet exige, comme on le sait, pour l'obtention en grande quantité du virus claveleux nécessaire, l'inoculation de moutons selon la technique de Borrel (1). Or, il est arrivé, à plusieurs reprises, que des lots successifs de moutons ainsi inoculés ne fournissent aucune réaction bien que la souche de claveau restât la même. L'immunité naturelle eût pu être invoquée pour expliquer le fait s'il s'était agi d'un mouton ou même d'un lot de moutons provenant d'un même achat. Elle ne pouvait être mise en cause pour une série de lots. La constatation de l'agalaxie sur certains agneaux producteurs de virus claveleux et la coïncidence de cette constatation avec une série d'inoculations claveleuses négatives ont fait entrevoir la cause probable des succès observés : une action inhibitrice du virus agalactique sur le virus claveleux. L'expérience suivante vient à l'appui de cette hypothèse : deux agneaux inoculés selon le procédé Borrel avec une dilution contenant 10 cent. cubes de claveau et 1 cent. cube de culture récente d'agalaxie n'ont fait aucune réaction. Sur 6 agneaux du même lot inoculés de la

(1) Injection sous-cutanée de 600 cent. cubes d'une dilution de claveau dans l'eau physiologique. Le mouton réagit par un vaste œdème sous-cutané, véritable culture *in vivo* de virus claveleux.



même façon avec une dilution de claveau sans agalaxie, 3 ont fourni de belles réactions (1).

Il n'en est pas de même lorsqu'on inocule un mélange des deux virus dans le derme. Dans ce cas, la pustule claveleuse apparaît et évolue normalement.

Etant donné le mode d'obtention du virus claveleux, il était de première importance de pouvoir purifier le claveau destiné à l'inoculation des agneaux.

On sait que le *violet hexaméthylé* a, vis-à-vis de certains germes, un pouvoir antigénétique remarquable [12]. Cette propriété est utilisée à l'Institut Pasteur d'Algérie pour assurer, dans la mesure du possible, la pureté du vaccin anticlaveleux. Il était indiqué de voir l'effet de cette couleur sur le virus agalactique. Or, l'expérience a montré que le violet hexaméthylé ajouté, dans la proportion de 1 pour 300.000, à une *dilution claveleuse étendue* souillée d'agalaxie n'a pas d'influence sur l'activité du virus claveleux alors qu'il détruit le virus agalactique après un contact de dix jours à la température de 12°-14°. L'action du violet hexaméthylé est moins efficace et même tout à fait insuffisante si la couleur est ajoutée au *mélange virulent non dilué*; ce qui revient à dire que l'addition de la couleur à un claveau souillé d'agalaxie n'assure pas la purification du claveau.

Nos observations sur la résistance du virus agalactique à diverses températures nous ont fourni une meilleure solution du problème. Lorsqu'on laisse séjourner à la glacière à 0° et en ampoules scellées un mélange de claveau et de virus agalactique, l'activité du virus claveleux reste entière pendant de longs mois alors que celle du virus agalactique disparaît en trois mois au plus. Après ce laps de temps, l'inoculation intradermique du mélange au mouton provoque la formation d'une pustule claveleuse, mais ne fait apparaître aucun symptôme d'agalaxie; l'inoculation intra-articulaire n'est plus suivie d'arthrite. La virulence du germe de l'agalaxie a disparu; le claveau est purifié.

(1) L'expérience a été faite avec le claveau qui est entretenu à l'Institut Pasteur d'Algérie depuis de longues années par des passages sous la peau du mouton. On ne saurait affirmer *a priori* que le résultat serait le même avec un virus claveleux fraîchement recueilli sur un mouton malade.

## AGALAXIE ET STAPHYLOCOQUES.

Il arrive que le produit virulent prélevé sur un animal agalactique renferme, en même temps que le microbe de l'agalaxie, un staphylocoque. L'examen microscopique ne révèle pas toujours la présence de ce dernier germe, mais l'ensemencement en bouillon-sérum donne une culture mixte. Après une dizaine de repiquages, on ne constate aucune gêne dans le développement de l'un et de l'autre germes. Si on laisse séjourner à l'étuve à 37° une culture mixte (sous huile de vaseline), on voit se former au fond du tube un abondant dépôt de staphylocoques. Un réensemencement pratiqué au bout de trois mois donne encore naissance à une culture mixte dans laquelle on remarque de nombreuses formes longues du microbe de l'agalaxie. Après quelques mois d'étuve, le staphylocoque survit seul.

Si on ensemence avec une goutte de culture d'agalaxie une culture déjà bien développée de staphylocoque en bouillon-sérum, le germe de l'agalaxie pousse dans ce milieu aussi vite, sinon plus, que dans le bouillon-sérum neuf.

## DIAGNOSTIC BACTÉRIOLOGIQUE DE L'AGALAXIE.

*L'examen direct*, après coloration, d'un produit pathologique — lait, liquide d'arthrite, suc ganglionnaire — ne permet pas d'assurer un diagnostic. Les formes microbiennes sont nombreuses, mais ne se distinguent pas avec une netteté suffisante pour emporter la conviction. D'autre part, la présence d'autres espèces microbiennes, et principalement de staphylocoques, peut faire attribuer à ces germes un rôle étiologique qu'ils n'ont pas.

*L'ensemencement* en bouillon-sérum fournit des renseignements plus précieux. Si le produit est pur, l'examen de la culture permet un diagnostic rapide. Dans le cas contraire, si l'examen de la culture laisse un doute, on aura recours à la *filtration* dans les conditions exposées plus haut. Ainsi, dans tous les cas, le microbe de l'agalaxie pourra être isolé et identifié.

Des essais de *réactions allergiques* (injections sous-cutanées



ou intradermiques, instillation dans l'œil, de cultures tuées) ne nous ont donné aucun résultat.

La réaction *d'agglutination* ne nous paraît pas susceptible de fournir des renseignements utiles. Certains sérums « agalactiques » agglutinent au taux de 1/500; d'autres agglutinent au taux de 1/100, comme un sérum normal.

La réaction de *déviatiou du complément* paraît plus intéressante, mais nous ne pouvons encore indiquer une technique précise dont on puisse tirer profit.

### Immunisation.

#### SÉROTHÉRAPIE.

SÉROTHÉRAPIE PRÉVENTIVE. — Utilisant comme virus, pour l'hyperimmunisation de ses animaux, de la sérosité pleurale, Carré avait obtenu un sérum doué de propriétés préventives; à la dose de 20 cent. cubes, ce sérum permettait à des brebis de résister à l'inoculation intramusculaire de 2 cent. cubes de lait virulent, épreuve qui rendait les témoins boiteux et les tuait en quinze et vingt-deux jours. Dans une autre expérience, deux injections de 10 cent. cubes de sérum, pratiquées à douze jours d'intervalle, avaient protégé des brebis contre un repas infectant; sur quatre témoins, deux étaient restés indemnes, les deux autres avaient présenté des symptômes d'agalaxie (boiteries, kératites, etc...).

Bien qu'elles n'aient porté que sur des ovins, les observations de Carré étaient encourageantes. En possession de cultures pures, pouvant ainsi injecter à des animaux des quantités considérables de virus agalactique, nous avons l'espoir légitime d'obtenir un sérum préventif de grande valeur. Des moutons, des chèvres et des chevaux ont reçu, soit sous la peau, soit dans la veine, des quantités croissantes de cultures.

SÉRUM PRÉPARÉ CHEZ DES MOUTONS. — 16 février 1924 : Les moutons ont reçu 200 cent. cubes de culture par voie sous-cutanée. Le sérum ne protège pas contre l'inoculation sous-cutanée d'une dilution virulente (liquide d'arthrite), ni contre l'inoculation intra-articulaire.

4 avril : Les moutons ont reçu 650 cent. cubes de culture. A la dose de 20 cent. cubes, le sérum protège une chèvre contre l'inoculation sous-cutanée de 0 c. c. 4 de culture. Il ne protège pas un mouton contre l'inoculation intra-articulaire de 0 c. c. 2.

12 avril : Les moutons ont reçu 1.050 cent. cubes de culture. A la dose de 20 cent. cubes, le sérum ne protège pas contre l'inoculation intra-articulaire.

Dans ces expériences, tous les animaux témoins ont présenté des symptômes d'agalaxie.

SÉRUM PRÉPARÉ CHEZ DES CHÈVRES. — Disons tout de suite que le sérum préparé par voie intraveineuse s'est montré supérieur, dès le début, à celui qui était préparé par voie sous-cutanée.

31 janvier 1925 : Les chèvres ont reçu 600 cent. cubes de culture. Action préventive nulle des deux sérums aux doses de 5 ou de 10 cent. cubes chez la chèvre, mais réelle chez le mouton. A la dose de 20 cent. cubes, le sérum préparé par la voie intraveineuse protège la chèvre laitière contre l'inoculation sous-cutanée de 0 c. c. 5 de culture. L'autre sérum est impuissant, à la même dose, chez la chèvre laitière.

Nous relaterons plus loin (v. SÉRO-INOCULATION) d'autres expériences faites avec le sérum préparé sur les chèvres.

SÉRUM PRÉPARÉ CHEZ DES CHEVAUX. — Deux chevaux, l'un de dix ans, l'autre de cinq ans, ont reçu des quantités croissantes de culture d'agalaxie, le premier dans la veine, le second sous la peau d'abord; puis, au bout de cinq mois, dans la veine. Les injections étaient pratiquées tous les huit à dix jours.

31 janvier 1925 : Les chevaux ont reçu chacun 1.320 cent. cubes de culture. Les sérums sont mélangés. A la dose de 20 cent. cubes, le sérum protège la chèvre laitière contre l'inoculation sous-cutanée de 0 c. c. 5 de culture.

Ces divers essais montrent que le sérum anti-agalactique préparé chez le mouton, chez la chèvre ou chez le cheval, n'a de valeur préventive bien nette qu'à la dose de 20 cent. cubes, lorsque l'épreuve est pratiquée par inoculation de 0 c. c. 5 de culture sous la peau. (Il est toutefois impuissant, même à cette dose, à protéger les animaux contre l'inoculation intra-articulaire.) Mais, étant donné la sensibilité de nos



animaux d'expériences et la prédilection du virus agalactique pour la mamelle en activité de la chèvre (toutes les chèvres témoins sont devenues agalactiques), le fait que le sérum a protégé des chèvres en lactation contre l'inoculation de 0 c. c. 5 de culture donne à ce sérum une valeur préventive très appréciable.

**SÉROTHÉRAPIE CURATIVE.** — Dans une expérience, deux injections intraveineuses de 50 cent. cubes de sérum à une chèvre qui présentait de l'agalaxie du quartier gauche de la mamelle depuis trois jours n'ont pu empêcher l'infection de gagner l'autre quartier. Dans une autre expérience, l'injection intraveineuse de 50 cent. cubes à une chèvre qui boitait depuis quelques heures seulement a amené une atténuation de la boiterie. Enfin, dans une troisième expérience, à la suite de l'injection intraveineuse de 50 cent. cubes de sérum, pratiquée chez une chèvre quelques heures après la constatation d'un changement dans la couleur du lait (lait jaunâtre), le lait est redevenu normal.

Si le pouvoir curatif du sérum n'est pas fixé, ni même démontré par ces simples observations, il apparaît toutefois comme vraisemblable.

#### IMMUNISATION ACTIVE.

Les animaux qui guérissent de l'agalaxie naturelle ou expérimentale acquièrent généralement une immunité telle que l'inoculation intra-articulaire de 0 c. c. 2 de culture reste négative. Cette immunité solide a d'ailleurs été reconnue par nos devanciers et plusieurs auteurs ont cherché à la produire dans un but prophylactique par une inoculation pratiquée dans certaines conditions : inoculation de virus supposé atténué, séro-inoculation, inoculation aux jeunes animaux, etc... D'après Giovanoli [14], les agneaux des Abruzzes seraient vaccinés au moyen d'un vaccin préparé avec du lait virulent.

Nos essais d'immunisation active ont porté sur de nombreux procédés. Ces essais étant en cours, nous ne pouvons que rapporter succinctement, en les commentant, les constatations faites jusqu'ici.

IMMUNISATION PAR UN VIRUS DIFFÉRENT (PÉRIPNEUMONIE). — Aucun des animaux inoculés avec une culture de péripneumonie n'a manifesté ultérieurement d'immunité vis-à-vis de l'agalaxie.

IMMUNISATION PAR INOCULATION DE CULTURES D'AGALAXIE NON ATTÉNUÉES. — A. Les diverses *voies d'inoculation* ont été essayées; toutes se sont montrées dangereuses à des degrés divers. Néanmoins, des moutons ont pu recevoir, en inoculation sous-cutanée, 1 cent. cube d'une culture de souche récente sans présenter ensuite aucun symptôme d'agalaxie. Ces moutons ont acquis une immunité qui leur a permis de résister à l'inoculation intra-articulaire, épreuve extrêmement sévère, comme on l'a vu plus haut. Cela montre que les expériences d'immunisation anti-agalactique faites sur l'espèce ovine ne doivent pas être considérées comme probantes pour l'espèce caprine. Cette constatation a été faite avant nous par Carré [43].

L'inoculation par *scarification* avait fourni dans des expériences portant sur des moutons ou des chevreaux des résultats encourageants. Exemple :

2 mai 1924 : 4 chevreaux sont inoculés sur le côté droit du thorax par scarification de l'épiderme.

26 mai : Les 4 chevreaux n'ayant présenté aucun signe d'infection sont inoculés dans l'articulation du genou gauche avec 0 c. c. 2 de culture, en même temps que 2 chevreaux témoins.

Les 2 témoins font de l'arthrite. Sur les 4 chevreaux scarifiés, 1 a boité légèrement; les 3 autres sont restés indemnes.

Puis, de pareils essais pratiqués sur des chèvres laitières aboutirent à un insuccès absolu : l'inoculation par scarification fut suivie d'agalaxie.

Il faut retenir de ces expériences la résistance manifestée par les jeunes animaux, résistance dont on peut tirer profit.

B. — Un *lipo-virus* a été préparé de la façon suivante : un culot du poids de 0 gr. 15 représentant 40 cent. cubes de culture est incorporé à de la lanoline (0 gr. 5), puis émulsionné dans de l'huile d'olives stérile (20 cent. cubes). Ce lipo-virus, inoculé sous la peau de chèvres laitières aux doses de 0 c. c. 2 à 0 c. c. 5, donna l'agalaxie en huit jours.

## IMMUNISATION PAR INOCULATION DE CULTURES ATTÉNUÉES (?).

A. — PASSAGE DU MICROBE EN MILIEU RENFERMANT DU SÉRUM D'ANIMAL NON SENSIBLE A L'AGALAXIE. — Dujardin-Beaumetz a montré que le microbe de la péripneumonie cultivé dans un bouillon préparé avec de la viande de cheval et additionné de sérum de cheval perd en partie sa virulence pour le bœuf. Des essais du même ordre avec le microbe de l'agalaxie ont abouti à un résultat différent. Quelle que soit l'origine du milieu utilisé pour la culture, la virulence est restée la même pour la chèvre.

B. — VIEILLISSEMENT. — Des cultures conservées sous huile de vaseline à l'étuve à 37° depuis un an pouvaient être considérées comme atténuées. Ces cultures d' « agalaxie vieille » sont réensemencées en bouillon-sérum.

EXPÉRIENCE I. — 4 novembre 1924 : La chèvre 26 reçoit sous la peau 0 c. c. 5 d'une culture de cinq jours de la souche « agalaxie vieille ».

La chèvre 35 reçoit 1 cent. cube de même culture.

Aucun symptôme d'agalaxie n'apparaît chez ces chèvres.

22 décembre : La chèvre 35 reçoit par inoculation sous-cutanée 0 c. c. 5 de culture d'agalaxie vieille.

La chèvre 26 reçoit 0 c. c. 5 de même culture dans la veine.

Une chèvre 23 reçoit 2 cent. cubes sous la peau.

5 janvier 1925 : La chèvre 23 fait de l'agalaxie. Les deux autres chèvres restent indemnes.

31 janvier : Les chèvres 35 et 26 sont inoculées sous la peau en même temps qu'une chèvre témoin avec 1 cent. cube de culture de souche récente.

Les 3 chèvres font de l'agalaxie en six et sept jours.

EXPÉRIENCE II. — 27 janvier 1925 : Culture d' « agalaxie vieille » datant de sept jours.

Inoculation sous-cutanée à la face externe de l'oreille.

Chèvre 15, 0 c. c. 25 ; chèvre 13, 0 c. c. 5 ; chèvre 43, 1 cent. cube.

Inoculation intraveineuse de 0 c. c. 25 à la chèvre 4.

Les chèvres 15, 13 et 43 restent indemnes. La chèvre 4 présente le 13 février un point de kératite à gauche.

7 mars : Les 4 chèvres ci-dessus sont inoculées sous la peau en même temps qu'une chèvre 2, témoin, avec 0 c. c. 5 de culture récente.

12 mars : La chèvre 2 présente de l'agalaxie.

24 mars : La chèvre 43 est agalactique.

11 avril : Les chèvres 4, 13 et 15, qui ont conservé leur lait intact reçoivent en injection intraveineuse 1 cent. cube de culture de souche récente.



14 avril : La chèvre 15 présente de l'agalaxie.

Les autres chèvres continuent à donner du lait normal.

EXPÉRIENCE III. — Une expérience faite sur des moutons fournit le résultat suivant : sur 3 moutons inoculés avec une culture d'agalaxie vieille, sous la peau, 1 résista à l'épreuve de l'inoculation intra-articulaire d'une culture de souche récente; les 2 autres firent des arthrites.

Ces expériences montrent : 1° Que les cultures d'agalaxie vieille ont encore une virulence suffisante pour donner, à la dose de 2 cent. cubes, l'agalaxie à la chèvre laitière ; 2° que l'inoculation de ces cultures à des doses non infectantes ne confère pas à coup sûr l'immunité.

C. — NOMBREUX PASSAGES EN MILIEU LIQUIDE (BOUILLON-SÉRUM).

— Une souche d'agalaxie isolée en février 1924 a été entretenue en bouillon-sérum par repiquages pratiqués tous les trois ou quatre jours (souche Hilbert).

EXPÉRIENCE I. — 16 février 1925 : Inoculation de culture Hilbert de quarante-huit heures (plus de 100 passages) : chèvre 20, 1 cent. cube sous la peau du thorax ; 2 autres chèvres, 1 cent. cube dans la jugulaire.

Les deux dernières chèvres font de l'agalaxie et meurent. La chèvre 20 reste indemne.

31 mars : La chèvre 20 reçoit 1 cent. cube de culture très virulente et résiste.

EXPÉRIENCE II. — 17 février : La culture Hilbert est inoculée à la dose de 1 cent. cube dans la jugulaire de 3 moutons.

31 mars : 2 moutons restants et 1 témoin reçoivent 0 c. c. 2 de culture très active dans le genou gauche.

Le témoin fait une arthrite. 1 des 2 autres moutons boite légèrement; le deuxième reste indemne.

EXPÉRIENCE III. — 3 avril 1925 : Une culture Hilbert du 25 mars est inoculée sous la peau des chèvres suivantes : Chèvre 36, 0 c. c. 5 à l'oreille ; chèvre 54, 1 cent. cube à l'oreille ; chèvre 31, 0 c. c. 5 au thorax ; chèvre 48, 1 cent. cube au thorax.

La chèvre 48 meurt accidentellement le 9 avril, sans avoir présenté de symptômes d'agalaxie.

La chèvre 31 présente de l'agalaxie double le 22 avril. Les chèvres 36 et 54 continuent à donner du lait normal, mais la chèvre 36 a présenté une double kératite très légère.

La souche Hilbert qui a subi une centaine de passages en bouillon sérum a perdu de sa virulence. Elle est néanmoins capable de donner l'agalaxie par inoculation intraveineuse et même sous-cutanée à la chèvre laitière. Lorsque l'inoculation n'est pas suivie d'infection, elle peut conférer l'immunité. Le fait est surtout vérifiable chez le mouton.

D. — CULTURES CHAUFFÉES. — Un mélange ainsi composé : culture de sept jours de souche Hilbert (70 passages) 10 cent. cubes, glycérine, 20 cent. cubes, sérum normal de cheval, 30 cent. cubes, est réparti en ampoules que l'on soumet à la température de 53° pendant cinq minutes. L'ensemencement du mélange chauffé a fourni une culture maigre au bout de quarante-huit heures.

10 novembre 1924 : Le mélange chauffé cinq minutes à 53° est inoculé :

A une chèvre 8 sous la peau de l'oreille, à la dose de 0 c. c. 4,

A une chèvre 20 sous la peau du thorax, à la dose de 0 c. c. 4,

A un mouton dans l'articulation du genou, à la dose de 0 c. c. 3.

Un mouton témoin recoit dans le genou 0 c. c. 3 de mélange non chauffé.

18 novembre : Le mouton témoin présente une arthrite.

1<sup>er</sup> décembre : Les chèvres 8 et 20 font de l'agalaxie.

3 décembre : Seul, le mouton inoculé avec le mélange chauffé est resté indemne. A une épreuve pratiquée avec une souche récente, par inoculation intra-articulaire, il présente une arthrite au bout de vingt et un jours. Du suc ganglionnaire prélevé aseptiquement et ensemencé en bouillon-sérum donne une culture pure d'agalaxie.

Le virus chauffé a donné l'agalaxie à la chèvre. Il ne s'est montré, pour le mouton, ni pathogène, ni immunisant (épreuve faite au bout de vingt-trois jours).

#### E. — CULTURES TUÉES. — a) *Par chauffage.*

Une culture a été chauffée une heure à 56°. L'inoculation à des doses variant entre 1 cent. cube et 3 c. c. 5 à des moutons n'a produit aucune réaction.

A l'épreuve de l'inoculation intra-articulaire, les moutons n'ont pas montré d'immunité appréciable.

#### b) *Par addition de formol (Ramon).*

1. A une culture en bouillon-sérum lactosé bien développée (cinq jours), on ajoute du formol dans la proportion de 5 p. 1.000. On laisse le tube à l'étuve pendant vingt-deux jours. L'ensemencement reste stérile.

Un mouton inoculé dans le genou gauche avec 0 c. c. 4 de culture formolée ne réagit pas. Réinoculé dix-sept jours plus tard dans la même articulation et dans l'articulation du jarret droit avec une culture virulente, il fait de l'arthrite du jarret droit et boite très légèrement du genou gauche (immunité locale ?).

II. Dans une seconde expérience, la proportion de formol ajouté à la culture n'est que de 1 p. 1.000. Au bout de cinq jours, l'ensemencement de cette culture reste stérile.

6 mai 1925 : La culture formolée est restée douze jours à l'étuve à 37°. On

l'injecte sous la peau de 2 chèvres : la chèvre A 44 reçoit 5 cent. cubes, la chèvre A 46 10 cent. cubes.

16 mai : La chèvre A 44 présente des signes d'agalaxie ; le quartier gauche de la mamelle est tari.

28 mai : Chèvre A 44 : lait cailléboté à gauche (staphylocoques).

La chèvre A 46 est restée indemne. Eprouvée le 15 juin par injection sous-cutanée de 0 c. c. 5 de culture de souche récente, elle fait de l'agalaxie.

\*  
\* \*

Nous arrivons maintenant à des procédés d'immunisation dans lesquels on fait intervenir l'action du sérum d'animaux préparés :

#### A. — CULTURE EN BOUILLON ADDITIONNÉ DE SÉRUM ANTI-AGALACTIQUE.

17 mai 1924 : La souche Hilbert a fait 36 passages dont 10 en milieu renfermant du sérum anti-agalactique. Une chèvre 10 reçoit 0 c. c. 5 de culture sous la peau du thorax.

10 juin : La chèvre 10 est restée indemne. Son lait est abondant et normal.

19 août : La chèvre 10 est inoculée sous la peau avec 2 cent. cubes de culture très virulente en même temps qu'une chèvre témoin.

Les deux chèvres font de l'agalaxie.

La culture en milieu à sérum anti-agalactique avait perdu de sa virulence. Elle n'a conféré aucune immunité à une chèvre.

#### B. — VIRUS SENSIBILISÉ.

I. Des cultures d'agalaxie centrifugées longuement ont fourni un culot qui est mis en contact avec du sérum anti-agalactique pendant quarante-huit heures à 17°. Après une nouvelle centrifugation, le culot est redilué dans de l'eau physiologique (100 cent. cubes).

16 mars 1925 : Inoculation sous-cutanée à l'oreille :

Chèvre 1, 0 c. c. 5 ; chèvre 36, 0 c. c. 5.

30 mars : La chèvre 36 qui était en mauvais état au moment de l'inoculation fait de l'agalaxie. Elle est sacrifiée.

2 mai : La chèvre 1 est restée indemne. Elle reçoit sous la peau 0 c. c. 5 de culture pleinement virulente.

Elle reste indemne.

II. Une culture d'agalaxie de six jours en bouillon-sérum est centrifugée pendant une heure. Le liquide est très clair. Une partie du culot est mise en contact avec du sérum anti-agalactique ; l'autre est mélangée à du sérum normal de cheval. Au bout de trois jours, les deux mélanges sont centrifugés et les culots sont dilués dans la même proportion dans du sérum de cheval.

26 mars 1925 : Inoculation des mélanges :

Chèvre 45 reçoit 0 c. c. 4 (1 cent. cube de culture) de virus non sensibilisé. Elle fait de l'agalaxie le 31 mars.



Chèvre 38 reçoit 0 c. c. 2 de virus sensibilisé.

Elle reste indemne.

Chèvre 50 reçoit 0 c. c. 5 de virus sensibilisé.

Elle devient agalactique le 9 avril.

Chèvre 60 reçoit 0 c. c. 5 de virus sensibilisé.

Elle devient agalactique le 9 avril.

2 mai : La chèvre 38 est inoculée avec 0 c. c. 5 de culture virulente.

Elle reste indemne.

III. Nouvelle préparation de virus sensibilisé. Les chèvres suivantes sont inoculées sous la peau :

Chèvre A17 : le 2 mai avec 0 c. c. 5 de virus sensibilisé.

Le 23 mai, avec 1 cent. cube de virus sensibilisé.

Agalaxie le 25 mai.

Chèvre A19 : le 2 mai 0 c. c. 5 de virus sensibilisé.

Le 23 mai, 1 cent. cube de virus sensibilisé.

Le 15 juin, 0 c. c. 5 de culture virulente.

Est restée indemne.

Chèvre A20 : le 2 mai, 0 c. c. 5 de virus sensibilisé.

Le 15 juin, 0 c. c. 5 de culture virulente.

Agalaxie.

Chèvre A24 : le 2 mai, 0 c. c. 25 de virus sensibilisé.

Agalaxie et mort (Cette chèvre était malade lors de l'inoculation).

Chèvre A22 : le 2 mai, 0 c. c. 25 de virus sensibilisé.

Le 23 mai, 0 c. c. 5 de virus sensibilisé.

Agalaxie.

Chèvre A23 : le 2 mai, 0 c. c. 25 de virus sensibilisé.

Le 23 mai, 0 c. c. 5 de virus sensibilisé.

Le 15 juin, 0 c. c. 5 de culture virulente.

Agalaxie le 27 juin.

Chèvre A25 : le 2 mai, 0 gr. 25 de virus sensibilisé.

Agalaxie le 8 juin.

Chèvre A27 : le 2 mai, 0 c. c. 25 de virus sensibilisé.

Le 15 juin, 0 c. c. 5 de virus sensibilisé.

Est restée indemne.

A l'épreuve du 15 juin, deux chèvres témoins inoculées avec 0 c. c. 5 de culture virulente ont fait de l'agalaxie.

On peut tirer de ces expériences, dont les résultats apparaissent de prime abord assez déconcertants, quelques enseignements : la durée de l'incubation pouvant atteindre trente-sept jours (chèvre A25), il est imprudent de renouveler, comme nous l'avons fait, l'injection du virus sensibilisé au bout de trois semaines, ce délai étant insuffisant pour que l'immunité s'établisse. Ceci expliquerait l'apparition de l'agalaxie chez les chèvres A17 et A22 et même chez la chèvre A23 pour laquelle l'inoculation d'épreuve a pu être trop précipitée.

Quelle que soit l'interprétation de ces observations, il est un fait bien net : c'est que l'injection de 0 c. c. 5 ou même de

0 c. c. 25 de virus sensibilisé peut donner l'agalaxie aux chèvres. La méthode est susceptible de perfectionnement sans doute puisque la technique de préparation du virus agalactique sensibilisé n'est pas bien fixée, mais il est à craindre qu'elle soit difficilement applicable aux chèvres laitières.

**SÉRO-INOCULATION.** — Dans les expériences ayant pour but d'établir la valeur préventive de nos sérums d'animaux hyperimmunisés, les animaux d'expérience qui avaient résisté à l'inoculation virulente pratiquée le lendemain ou le surlendemain de l'injection de sérum avaient résisté également à une épreuve pratiquée cinq semaines plus tard. Cette constatation plaide en faveur d'un procédé d'immunisation par séro-inoculation.

I. *30 mai 1924* : 4 chèvres sont inoculées sous la peau avec 0 c. c. 5 de culture souche Hilbert (46<sup>e</sup> passage), 3 chèvres reçoivent, en outre, respectivement 20 cent. cubes, 10 cent. cubes et 5 cent. cubes de sérum. La dernière est conservée comme témoin.

Toutes font de l'agalaxie.

3 agneaux et 3 moutons sont inoculés de la même façon et traités au sérum aux mêmes doses. Tous résistent.

Cette expérience établit nettement la différence de sensibilité des espèces ovine et caprine vis-à-vis de l'agalaxie contagieuse.

II. *20 février 1925* : Les chèvres suivantes sont inoculées sous la peau de l'oreille avec 0 c. c. 1 de culture Hilbert.

La chèvre 14 reçoit en outre 5 cent. cubes de sérum anti-agalactique de chèvre.

La chèvre 8 reçoit en outre 5 cent. cubes de sérum anti-agalactique de chèvre.

La chèvre 16 reçoit en outre 10 cent. cubes de sérum anti-agalactique de chèvre.

*24 mars* : Inoculation d'épreuve : 1 cent. cube de culture de souche récente, sous la peau de ces chèvres et d'une chèvre 57, témoin.

Les chèvres 14 et 57 font de l'agalaxie. Les autres restent indemnes.

III. *15 juin* : La chèvre C46 est inoculée sous la peau avec 0 c. c. 5 de culture de souche récente et reçoit 10 cent. cubes de sérum anti-agalactique de chèvre.

Cette chèvre est restée indemne, tandis que deux chèvres inoculées seulement avec 0 c. c. 5 de la même culture ont fait de l'agalaxie.

La séro-inoculation n'est donc pas susceptible de conférer à coup sûr l'immunité chez les chèvres laitières.

Nous nous sommes attachés, dans les expériences que nous venons de rapporter, à la recherche d'une méthode d'immunisation anti-agalactique qui réunisse les deux qualités essentielles : efficacité certaine et innocuité. Nous avons choisi comme animal d'expérience le plus sensible entre tous : la chèvre laitière. Nous ne pouvons aujourd'hui que constater l'énorme difficulté du problème. Le virus vivant paraît seul apte à produire l'immunité, mais la facilité avec laquelle il se fixe sur la mamelle en lactation semble être un obstacle sérieux à l'emploi d'une méthode prophylactique basée sur l'immunisation de la chèvre laitière. D'autre part, Carré [13] a constaté que la vaccination n'empêche pas l'infection directe de la mamelle et il est bien établi que le trayon est une porte d'entrée souvent empruntée par le germe de l'agalaxie.

Si l'on considère que les brebis et les chèvres laitières sont, dans la pratique, les seuls animaux qu'il importe d'immuniser contre l'agalaxie, il faut reconnaître que les méthodes de vaccination tentées jusqu'à ce jour apparaissent comme peu capables de conduire à un résultat décisif. La localisation la plus redoutable économiquement est la mammite : c'est l'immunisation directe de la mamelle qu'il faut essayer d'obtenir.

### Conclusions.

L'agalaxie contagieuse du mouton et de la chèvre est due à un microbe dont la morphologie et la presque généralité des caractères culturels et biologiques sont identiques à ceux du microbe de la péripneumonie. Il forme avec ce dernier germe un nouveau groupe dont les principaux traits sont les suivants : fins microbes, immobiles, ne dépassant guère  $5\ \mu$  de longueur, qui affectent, après coloration, la forme de spirochètes, de vibrions ou d'anneaux, mais constitués vraisemblablement par des cocci réunis dans une gangue ; qui se cultivent, en présence ou à l'abri de l'air, dans les milieux renfermant une certaine proportion de sérum ; qui, enfin, traversent les bougies filtrantes Chamberland L I bis.

Le microbe de l'agalaxie est facile à isoler des produits pathologiques tels que le lait, le liquide d'arthrite, le suc



ganglionnaire, soit par culture directe, soit après filtration des produits dilués ou des cultures impures.

La culture est réalisable entre 24° et 41°5, la température optima étant de 37°.

A la température de 37°, à l'abri de l'air, le microbe conserve au moins vingt-deux mois sa vitalité et pendant quinze mois au moins une grande partie de sa virulence. Les températures inférieures lui sont moins favorables.

Il résiste 1 h. 30 à 50° et 7' 30 à 53°, mais il est tué à cette température en dix minutes. Il périt en trois mois au plus à la température de 0°.

Le microbe de l'agalaxie contagieuse n'est réellement pathogène que pour les espèces ovine et caprine, celle-ci se montrant beaucoup plus sensible que celle-là.

L'inoculation intraveineuse ou sous-cutanée de 0 c.c. 5 de culture à une chèvre laitière reproduit à coup sûr l'agalaxie. Le microbe témoigne d'une prédilection marquée pour la mamelle en activité.

En dehors d'une action pathogène différente, le microbe de l'agalaxie présente vis-à-vis du microbe de la péripneumonie les deux particularités suivantes : il pousse dans le lait, et il fournit dans les milieux à sérum des cultures plus riches.

Le microbe de l'agalaxie paraît avoir sur le virus claveleux une action inhibitrice qui se manifeste lors de l'inoculation sous-cutanée. Le virus claveleux peut être débarrassé du virus de l'agalaxie par un séjour de trois mois à la glacière à 0°.

Le microbe de l'agalaxie peut se développer en culture mixte avec un staphylocoque.

Le diagnostic bactériologique de l'agalaxie est assuré par l'ensemencement simple ou avec filtration sur bougie Chamberland L I bis.

Un sérum préventif peut être obtenu sur des moutons, des chèvres et des chevaux. Le sérum protège à la dose de 20 cent. cubes une chèvre laitière contre l'inoculation de 0 c.c. 5 de culture.

L'immunisation active de la chèvre en lactation est extrêmement difficile, sinon impossible par les méthodes essayées jusqu'à ce jour.

L'exposé de nos recherches nous fournit l'occasion de remplir un devoir agréable en adressant nos vifs et sincères remerciements à M. Hilbert, vétérinaire sanitaire à Oran, pour les multiples et signalés services qu'il nous a rendus au cours de cette étude; à M. Arlaud, vétérinaire départemental des Basses-Alpes, qui, avec le plus aimable empressement, nous a fait parvenir du virus de l'agalaxie; à M. Saintpierre, propriétaire à Oran, qui a très obligeamment mis ses troupeaux à notre disposition; enfin, à notre excellent camarade M. Lestoquard qui, en maintes circonstances, nous a prêté très cordialement son concours et dont la collaboration nous fut des plus précieuses.

## BIBLIOGRAPHIE

- [1] HESS et GUILLEBEAU, Ueber Infection Agalactie bei Ziegen. *Landwirtschaftl. Jahrbuch*, 7, et brochure (avec 6 pl. coloriées).
- [2] ORESTE et MARCONE, Mal del sito. *Atti del R. Istituto d'incorag. di Napoli*, 5 (sér. 4), 1892 et brochure; *Annali di agricoltura*, n° 210, 1896, p. 30.
- [3] BOURNAY, L'agalactie infectieuse. *Revue vétérinaire*, 1896, p. 65. NOCARD et LECLAINCHE. *Traité des maladies contagieuses des animaux*, 1903, 2, p. 412.
- [4] CELLI et DE BLASI, Etiologia dell' agalassia contagiosa delle pecore e capre. *Annali d'Igiene sperimentale*, 1906, fasc. 2. Prima esperienze di vaccinazione contre l'agalassia contagiosa delle pecore e capre, brochure, Milan, 1906.
- [5] CARRÉ (H.), L'agalaxie contagieuse de la brebis et de la chèvre. *Ces Annales*, 26, décembre 1912, p. 937-972, 2 planches en couleurs.
- [6] SERGENT (Edm.) et ROIG, Sur l'existence de l'agalaxie contagieuse des chèvres en Algérie et sur une infection surajoutée. *Bull. de la Soc. de Path. exot.*, 10, 11 juillet 1917, p. 575-585.
- [7] BRIDRÉ (J.) et DONATIEN (A.), Le microbe de l'agalaxie contagieuse et sa culture *in vitro*. *C. R. de l'Acad. des Sciences*, 177, 29 octobre 1923, p. 841 et *Bull. de la Soc. de méd. vétérinaire*, novembre 1923, p. 441-444.
- [8] DUJARDIN-BEAUMETZ (Edm.), Le microbe de la péripneumonie et sa culture. *Thèse Paris*, 1900. DOIN (Oct.).
- [9] NOCARD et ROUX avec la collaboration de BORREL, SALIMBENI et DUJARDIN-BEAUMETZ, Le microbe de la péripneumonie. *Ces Annales*, 1898, 12, p. 240-262.
- [10] BORDET (J.), La morphologie du microbe de la péripneumonie des bovidés. *Ces Annales*, 24, mars 1910, p. 161-167.
- [11] BORREL, DUJARDIN-BEAUMETZ, JEANTET et JOUAN, Le microbe de la péripneumonie. *Ces Annales*, 24, mars 1911, p. 168-179.
- [12] BRIDRÉ (J.), Sur l'action antigénétique de quelques couleurs d'aniline. *C. R. de la Soc. de Biologie*, 85, 1921, p. 645.
- [13] CARRÉ (H.), L'agalaxie contagieuse de la brebis et de la chèvre. Etude expérimentale (suite). *Ces Annales*, 35, 1921, p. 332.
- [14] GIOVANELLI (G.), L'agalaxie contagieuse de la chèvre. *Schweizer. Archiv für Tierheilkunde*, 31 août 1924.

(Institut Pasteur d'Algérie.)

## RECHERCHES SUR LES COCCIDIES ET LES COCCIDIOSES DU LAPIN

par Ch. PÉRARD

(Institut Pasteur, Laboratoire de Protozoologie.)

### III. — ÉTUDE DE LA MULTIPLICATION ENDOGÈNE

(Identification d'une 3<sup>e</sup> espèce de coccidie du lapin :  
*Eimeria magna* n. sp.)

Nous avons vu que les caractères fournis par les oocystes permettent de distinguer deux espèces de coccidies du lapin domestique : *E. stiedæ*, parasite du foie, et *E. perforans*, parasite de l'intestin, espèce subdivisée elle-même en deux variétés : petites formes ayant les dimensions habituellement attribuées à *E. perforans* et grandes formes pour lesquelles j'ai créé la variété *magna*.

On sait que, pour un grand nombre de coccidies (*s. l.*) le nombre de mérozoïtes formés par chaque schizonte est assez constant pour servir de base à la distinction des espèces (c'est le cas par exemple pour les hématozoaires du paludisme). En est-il de même pour les coccidies du lapin? Les auteurs qui ont étudié la multiplication endogène de ces coccidies ne semblent pas avoir tenu compte de l'espèce employée si tant est qu'ils étaient convaincus de l'existence de plusieurs espèces. A l'époque où R. Pfeiffer démontrait l'existence d'un cycle schizogonique dans l'évolution des coccidies (1892) et où Simond (1897) publiait son important travail sur l'évolution des sporozoaires du genre *Coccidium* (1), il importait avant tout de faire admettre l'existence controversée de ce cycle, que certains auteurs (Labbé notamment, 1899) continuaient à décrire comme espèce distincte de parasite<sup>2</sup>.

(1) P.-L. SIMOND, L'évolution des sporozoaires du genre *Coccidium*. Ces *Annales*, 1897, p. 545.



Pour compléter mes recherches sur les coccidies du lapin, il m'a paru intéressant d'étudier les caractères de la schizogonie de ces sporozoaires et de comparer les résultats au point de vue de la distinction des espèces avec ceux obtenus par l'étude des caractères biologiques et morphologiques de la sporogonie.

C'est le résultat de ces recherches que je vais exposer.

\*  
\* \*

Quand on dispose de virus purs, il est facile d'obtenir des infections expérimentales massives dont on interrompt l'évolution au cours de la schizogonie en sacrifiant les animaux en expérience au moment opportun.

Je me suis servi des oocystes mûrs d'*E. stiedæ*, d'*E. perforans*, et d'*E. perforans magna* isolés au cours de mes précédentes recherches sur les oocystes du lapin, et je les ai donnés en ingestion, les premiers à des jeunes lapins neufs âgés d'un mois et demi, les deux derniers à des lapereaux de trois se naines à un mois. On sacrifie les lapins du septième au douzième jour pour *E. stiedæ*, et du troisième au cinquième jour pour les coccidies intestinales. On se trouve alors dans les 3 cas en pleine évolution schizogonique.

Les lésions macroscopiques, à ce stade, sont peu accusées. Le foie commence à s'hypertrophier et présente quelques taches blanchâtres diffuses. L'intestin grêle est finement plissé et les lésions apparaissent sous forme de petites trainées blanches ou grises.

Mais l'examen microscopique du produit de raclage des canaux biliaires dans le premier cas, et de l'épithélium intestinal dans les autres, décèle une très grande richesse en schizontes et en mérozoïtes libres.

Ces formes de schizogonie ont été étudiées sur coupes histologiques colorées à l'hématoxyline ferrique, les fragments d'organes ayant été fixés au Bouin-Duboscq.

Dans les infections hépatiques produites par *E. stiedæ* (fig. 4), l'examen des coupes des canaux biliaires au niveau des foyers de multiplication du parasite permet de constater qu'un grand nombre de cellules épithéliales sont parasitées et l'on aperçoit

des schizontes à tous les stades, plusieurs générations de mérozoïtes ayant eu sans doute le temps de se développer côte à côte.

Ces mérozoïtes, ovoïdes ou sphériques, dont les dimensions peuvent atteindre 15 à 18  $\mu$  de diamètre (1), quand les mérozoïtes arrivent à maturité, se sont développés dans la partie proximale de la cellule épithéliale, refoulant le noyau et faisant

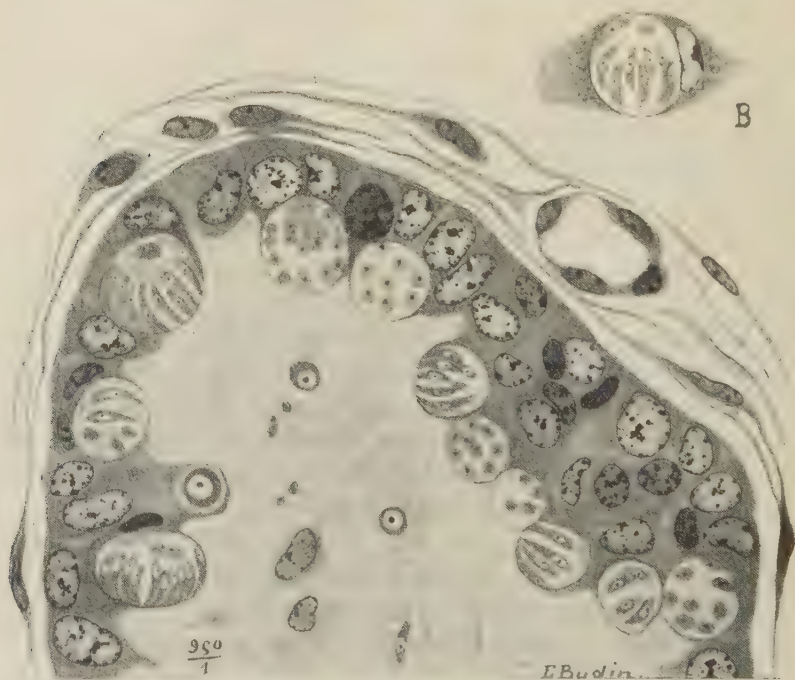


FIG. 1. — Coupe de canal biliaire du foie d'un lapin infecté avec *E. stiedae* et sacrifié au cours de la phase de schizogonie.

B. Schizonte développé dans une cellule hépatique.

hernie dans la lumière du conduit biliaire. Cette situation est vraisemblablement commandée par le peu d'élasticité des tissus des conduits biliaires, l'accroissement du parasite se faisant en direction des points de moindre résistance, c'est-à-dire vers la lumière du canal.

(1) Toutes les dimensions ont été prises sur les coupes colorées. Elles sont par conséquent inférieures aux dimensions réelles que possèdent les parasites à l'état frais.

Les schizontes arrivés à maturité, c'est-à-dire dans lesquels les mérozoïtes ont atteint leurs dimensions définitives, renferment un nombre de mérozoïtes qui varie de 2 à 30, les nombres les plus fréquents étant voisins de 8 (6 à 10). Quand ceux-ci sont encore orientés, on constate qu'il existe à un pôle un espace libre au milieu duquel se trouve une masse irrégulière peu chromatique, qui est le reliquat de segmentation.

Les mérozoïtes mûrs sont assez épais, ils mesurent 8 à 10  $\mu$  de long sur 1  $\mu$  5 à 2  $\mu$  de diamètre dans leur plus grande largeur. Le noyau renferme une vacuole volumineuse contenant un caryosome très apparent. Le protoplasme est homogène, sans grains sidérophiles visibles.

En règle générale, dans la coccidiose hépatique, seules les cellules épithéliales des conduits biliaires sont parasitées. On peut voir néanmoins sur la figure 1, B, un schizonte, renfermant 8 mérozoïtes de dimensions normales, développé dans une cellule noble du foie située à proximité d'un foyer de schizogonie. Mais le fait est exceptionnel dans cette forme d'infection.

Dans les infections intestinales expérimentales et massives obtenues avec la petite forme d'*E. perforans*, l'aspect des lésions est très différent.

Au niveau des foyers de schizogonie, les villosités sont bourrées de schizontes sensiblement au même stade, toutes les cellules épithéliales d'une même région semblant parasitées, celles qui ne le sont pas étant étouffées par le développement des schizontes qui se pressent les uns contre les autres comme les grains d'une grappe de raisin.

Ce qui frappe ensuite, c'est l'uniformité d'aspect des schizontes, le grand nombre, la minceur et la régularité de l'orientation des mérozoïtes (fig. 2). Les schizontes sphériques, sensiblement égaux, mesurent en moyenne 15  $\mu$  de diamètre. Ils sont remplis de mérozoïtes fins et longs, en forme de minces fuseaux effilés aux deux extrémités, régulièrement arqués, serrés les uns contre les autres, mesurant 10 à 12  $\mu$  de long sur 1/2 à 3/4 de  $\mu$  de diamètre. Le nombre des mérozoïtes par schizonte peut varier de 30 à 70, mais il est le plus souvent voisin de 40. Ces mérozoïtes contiennent un grand nombre de petits



grains sidérophiles disposés les uns à la suite des autres; l'un d'eux plus volumineux, situé au tiers de la longueur, représente vraisemblablement le noyau; la vacuole nucléaire est très petite et le plus souvent peu apparente. A l'un des pôles du schizonte, vers lequel convergent tous les mérozoïtes, on trouve d'une façon à peu près constante une masse très sidérophile



FIG. 2. — Coupe de l'extrémité d'une villosité intestinale d'un jeune lapin infecté avec *E. perforans*, montrant les lésions de la schizogonie.

relativement volumineuse (1 à 2  $\mu$ . de diamètre) qui représente le reliquat de segmentation.

Avec la grosse forme de coccidie intestinale (*E. perforans*, var. *magna*), l'aspect des lésions produites par la multiplication endogène du parasite ne présente aucune ressemblance avec celui que je viens décrire, bien qu'il s'agisse également d'une coccidiose exclusivement intestinale. Les schizontes ovales ou sphériques de taille variable peuvent mesurer à l'état

de maturité de 10 à 25  $\mu$  de diamètre (fig. 3). Ils contiennent des mérozoïtes fusiformes ou falciformes, présentant une extrémité effilée et l'autre arrondie, comme ceux d'*E. stiedæ*, mais de taille plus variable que ces derniers (4 à 10  $\mu$  de long, 1 à 2  $\mu$  5 de large).

Les limites de variations du nombre de ces éléments sont également plus étendues; ce nombre peut aller de 2 à 50 par schizonte. Leur noyau contient une grosse vacuole et le protoplasme est homogène, sans grains sidérophiles, comme celui

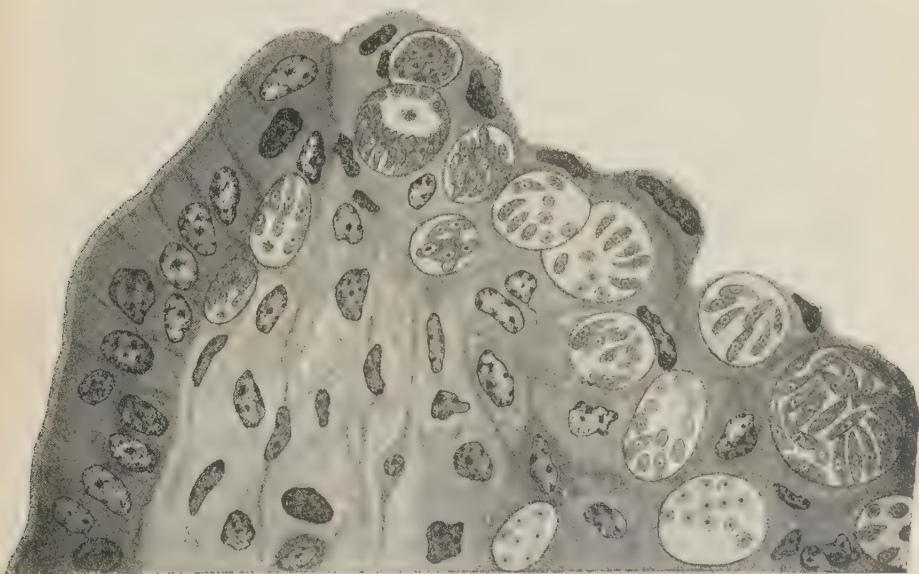


FIG. 3. — Coupe longitudinale de l'extrémité d'une villosité intestinale d'un lapin infecté avec *E. magna*, et sacrifié pendant la période de schizogonie.

d'*E. stiedæ*. Le reliquat de segmentation que l'on aperçoit bien dans quelques schizontes est peu sidérophile.

Quand les mérozoïtes ne sont pas arrivés à maturité ou que leur nombre est élevé, on constate qu'ils sont disposés régulièrement en quartier d'orange comme pour *E. perforans*, petites formes. Quand ils sont sur le point d'être mis en liberté, il est probable qu'ils commencent à se mouvoir à l'intérieur de l'enveloppe du schizonte, car on les voit alors orientés en tous sens. Mais il est possible que cette désagrégation soit le résultat de l'action du liquide fixateur sur ces êtres vivants et mobiles,

car sur le frais l'orientation régulière des mérozoïtes semble à peu près conservée jusqu'au moment de la rupture de l'enveloppe qui les retient.

Les mérozoïtes de cette variété présentent un autre caractère intéressant qui d'ailleurs ne leur est peut-être pas spécial.

Si l'on examine et colore le produit du grattage de la muqueuse intestinale au niveau des lésions, on constate qu'un grand nombre de mérozoïtes, libres dans la lumière de l'intestin ou libérés par éclatement de l'enveloppe du schizonte au cours de l'écrasement sur lame, ont déjà divisé leur noyau, comme si le rythme de la formation des générations successives d'éléments asexués avait entraîné cette division nucléaire dès que le mérozoïte est mûr, avant même son introduction dans une nouvelle cellule-hôte.

Ces éléments semblent en outre être doués d'un pouvoir de pénétration plus grand que ceux des autres espèces. Non seulement les cellules épithéliales sont parasitées, mais aussi et surtout les cellules conjonctives de l'intérieur des villosités, et souvent les lésions ressemblent à celles représentées sur la figure 3 où l'on voit les schizontes siéger dans le tissu conjonctif jusqu'au-dessous des cellules épithéliales indemnes, la partie de l'épithélium disparu ayant été vraisemblablement entraînée par l'éclatement des schizontes mûrs ou leur chute dans la lumière de l'intestin.

Cette invasion des cellules conjonctives par les mérozoïtes et le développement de schizontes arrivant à maturité dans ce tissu ne serait pas un fait nouveau. Dès 1899, Labbé, dans son traité des *Sporozoa*, en indiquait l'existence chez le lapin. Metzner, en 1903, signale le fait à nouveau et annonce des figures qui, à ma connaissance, n'ont pas été publiées. Mais tous les auteurs le considèrent plutôt comme un phénomène rare ou exceptionnel, tandis qu'ici il est extrêmement fréquent.

\*  
\* \*

Comme on le voit, les caractères morphologiques différentiels fournis par l'étude de la multiplication endogène des coccidies du lapin viennent confirmer l'existence d'espèces différentes démontrées par l'étude de la sporogonie.



Il ne fait pas de doute qu'*E. stiedæ* et *E. perforans* (petites formes) sont deux espèces différentes. Quant à la variété *magna* qui se rapproche d'*E. perforans* par les caractères de sa sporogonie (existence d'un reliquat de segmentation extra-sporal, libre à l'intérieur de l'oocyste), elle présente une schizogonie tellement différente de celle d'*E. perforans*, qu'il semble bien qu'elle mérite de former une espèce distincte, qui portera son nom de variété. Elle s'appellera donc *E. magna*. Cette nouvelle espèce, dont la schizogonie se rapproche de celle d'*E. stiedæ*, se distingue très nettement de la coccidie hépatique par la présence dans ses oocystes mûrs d'un reliquat de segmentation volumineux et libre qui fait totalement défaut dans les oocystes d'*E. stiedæ*.

L'existence de cette troisième espèce de coccidie du lapin, dont l'oocyste ressemble à celui d'*E. stiedæ* quand il est frais et à celui d'*E. perforans* quand il est segmenté, donne l'explication des confusions entre les deux espèces et des différences de résultats obtenus par les auteurs qui ont étudié la question de l'unicité ou de la dualité des espèces de coccidies du lapin (1).

\*  
\* \*

En résumé, l'étude des caractères fournis par la schizogonie et la sporogonie des coccidies du lapin permet de reconnaître qu'il existe chez cet animal trois espèces de coccidies du genre *Eimeria* que l'on peut caractériser de la façon suivante :

*E. stiedæ*, Lindemann 1865. Oocyste ovoïde, à pôles souvent légèrement inégaux; incolore ou coloré en jaune-orange; mesurant en moyenne  $37 \mu 5$  sur  $21 \mu 5$ ; micropyle fréquemment ouvert, ne renfermant pas après maturation de reliquat de segmentation libre, mais un reliquat de même nature dans chacun des 4 sporocystes (2). Sporulation exogène d'une durée minima de soixante heures.

(1) Si l'on compare les caractères de la schizogonie de ces trois espèces de coccidies du lapin avec ceux que Marotel vient de décrire pour la coccidie bovine (*Bull. des Sciences vétérinaires de Lyon*, 1925, p. 194), il ne semble pas possible d'identifier cette dernière espèce à *E. perforans*. Cette constatation confirme l'opinion de Marotel à ce sujet. L'aspect et le nombre des mérozoïtes rapprocherait plutôt d'*E. magna* la coccidie bovine, sans que ce rapprochement puisse avoir la signification d'une identité spécifique entre les deux parasites.

(2) Voir les figures III IV-V de notre 1<sup>er</sup> mémoire. Ces *Annales*, novembre 1924.

Multiplication endogène dans l'épithélium des conduits biliaires; schizontes ovoïdes ou sphériques de  $15\ \mu$  de diamètre en moyenne contenant le plus souvent 6 à 10 mérozoïtes trapus, effilés à une seule extrémité, de 8 à  $10\ \mu$  de longueur sur  $1\ \mu$  5 à  $2\ \mu$  de large, à noyau vacuolaire, sans grains sidérophiles dans le protoplasme.

*Habitat* : Exclusivement dans les canaux biliaires du lapin.

*Rôle pathogène* : Produit la coccidiose hépatique.

*E. perforans*, Leuckart 1879. Oocyste ovoïde, à pôles sensiblement égaux, incolore, mesurant en moyenne  $25\ \mu$  5 sur  $15\ \mu$  5; micropyle peu apparent; possédant après sporulation un reliquat de segmentation sphérique, moins gros qu'un des sporocystes, à côté desquels il est libre. Sporulation exogène d'une durée minima de trente heures.

Multiplication endogène dans les cellules épithéliales de l'intestin grêle. Schizontes sphériques de  $15\ \mu$  de diamètre en moyenne, remplis de mérozoïtes arqués, longs et minces ( $10$  à  $12\ \mu$  sur  $1/2$  à  $3/4$  de  $\mu$ ) au nombre de 36 à 40 en moyenne, possédant un protoplasme riche en grains sidérophiles et un noyau à vacuole peu ou pas apparente.

*Habitat* : Intestin grêle du lapin.

*Rôle pathogène* : Produit la coccidiose intestinale du lapin.

*E. magna* n. sp. Oocyste ovoïde fréquemment coloré en jaune-orange ou en brun, présentant le plus souvent un bout plus petit vers lequel se trouve le micropyle, large et bien apparent; mesurant en moyenne  $35\ \mu$  sur  $24$ ; possédant après sporulation un reliquat de segmentation sphérique, libre, granuleux, aussi volumineux que l'un des sporocystes à côté desquels il se trouve. Présence dans les sporocystes, entre les sporozoïtes, d'un petit reliquat finement granuleux de  $1$  à  $3\ \mu$  de diamètre. Sporulation exogène d'une durée minima de quarante-huit heures.

Multiplication endogène dans les cellules épithéliales et dans le tissu conjonctif des villosités intestinales. Schizontes ovoïdes ou sphériques de  $10$  à  $25\ \mu$  de diamètre contenant de 2 à

50 mérozoïtes fusiformes ou falciformes, pointus à une extrémité, de 4 à 10  $\mu$  de long sur 1 à 2  $\mu$  5 de large, possédant un noyau vacuolaire et un protoplasme sans granulations sidérophiles.

*Habitat* : Comme *E. perforans*, auquel il est fréquemment associé, ce parasite se développe exclusivement dans l'intestin grêle du lapin.

*Rôle pathogène* : Détermine une coccidiose intestinale du lapin semblable à celle produite par *E. perforans*.



## QUATRE ANNÉES DE VACCINATION CONTRE LE CHOLÉRA DES POULES

par A. STAUB.

Avant la guerre, la vaccination contre le choléra des poules était tombée depuis longtemps en désuétude, en raison, d'une part, de la rareté de cette affection, et d'autre part du peu de valeur des volailles à cette époque; si bien que l'Institut Pasteur avait complètement abandonné la préparation des vaccins contre le choléra des poules et que les souches mêmes de ces vaccins étaient perdues.

Peu de temps après la guerre, à la suite d'expéditions de volailles de provenance allemande, de violentes épizooties de choléra se déclarèrent dans les régions dévastées du Nord de la France. Des demandes pressantes de vaccin nous furent adressées.

Il ne fallait pas songer, vu l'urgence, à reprendre la mise en œuvre du procédé d'atténuation employé et décrit par Pasteur. L'atténuation, par ce procédé, exige des mois. Le contrôle des vaccins demande aussi fort longtemps pour des raisons que j'indique plus loin.

Je pensai alors à utiliser comme vaccin une *pasteurella* différente de celle des oiseaux, en l'espèce la *pasteurella* du lapin, qui n'est pas pathogène pour les poules. Cette immunité croisée a été mise en lumière par Chamberland et Jouan (1).

Jouan et moi-même avions essayé en 1913 d'expérimenter ce mode de vaccination dans la pratique; mais la rareté des épizooties et la difficulté d'être renseignés sur les résultats n'avaient pas rendu concluantes nos tentatives, que les hostilités arrêtaient.

Une souche de *pasteurella* du lapin, conservée en ampoules fermées, était fort heureusement demeurée vivante. Quelques

(1) CHAMBERLAND et JOUAN. *Ces Annales*, 20, 1906.

passages par péritoine de cobaye lui rendirent son activité. Après vérification de son innocuité pour la poule et de ses propriétés vaccinales, les cultures de cette *pasteurella* furent employées comme vaccin.

Les résultats dépassèrent mon attente. La mortalité s'arrêtait presque immédiatement après l'inoculation du vaccin. On nous signalait même des guérisons d'oiseaux déjà gravement atteints.

C'est ainsi que M. D..., vétérinaire dans le Pas-de-Calais, écrit : « .... Une épizootie s'est déclarée dans ma basse-cour (il s'agissait de choléra contrôlé). Sur 22 sujets traités par le vaccin, aucune mortalité; 2 sujets asphyxiant littéralement, guéris. Y aurait-il un effet curatif? Les résultats portent à le croire. »

De M. P..., vétérinaire dans le Var :

Protocole de 3 observations :

EXPLOITATION A. — « Sur un effectif de 115 poules, 30 succombent en quinze jours. Les 85 restantes sont traitées par différents médicaments sans résultat. Après examen bactériologique, les 39 poules qui subsistent, dont 4 malades, sont vaccinées : 1 coq s'échappe avant la vaccination. Dans les huit jours qui suivent, 2 des poules malades succombent, les 2 autres se rétablissent. 2 nouvelles poules ont une atteinte légère. Depuis (après deux mois d'observation), la mortalité est complètement arrêtée.

Il est intéressant de signaler que le coq qui a échappé à la vaccination a succombé. »

EXPLOITATION B. — « Effectif 12 poules : 3 morts en huit heures. Les 9 poules restantes sont vaccinées. Plus de mortalité; les poules sont restées dans le même local. »

EXPLOITATION C. — « Effectif 30 poules, 1 poule malade (diagnostic bactériologique : choléra) vaccination; aucune perte, aucune malade. »

De M. C..., vétérinaire dans l'Aisne :

« Jusqu'ici, partout où on a vacciné contre le choléra, la mortalité s'est arrêtée. »

De M. M..., vétérinaire dans l'Aube :

« ... La mortalité a reparu dans le foyer infecté des R... sur de nouvelles volailles, les vaccinés n'ont pas bougé. »

De M. R..., vétérinaire dans la Marne :

« Depuis la vaccination, la mortalité a totalement disparu. »

De M. R..., vétérinaire dans la Seine :

« Merveilleux résultats, 100 p. 100 de guérison. »

Il n'est pas inutile de mentionner que toutes les vaccinations dont les résultats sont mentionnés ci-dessus ont été faites après vérification bactériologique de la nature de la maladie.

Malgré ces témoignages concordants, j'étais un peu sceptique quant à la valeur curative de ce vaccin. J'avais, en effet, essayé de reproduire ces guérisons au laboratoire. Or, malgré une intervention précoce, même lorsque j'inoculais simultanément choléra des poules et pasteurella du lapin, je ne pouvais sauver mes animaux; tout au plus obtenais-je des survies de quelques heures sur les témoins.

A ce moment, un vétérinaire de Paris m'apporta 4 canards de son propre élevage qui venaient de succomber : l'examen montra la bactérie ovoïde en abondance dans le sang. Il restait encore 12 canards sur 25 qui composaient l'élevage. Parmi ceux-ci plusieurs ne mangeaient plus, une cane couveuse avait abandonné son nid et se trainait le long des murs. J'avais du vaccin tout prêt, qui put être inoculé le jour même à tous les survivants. Aucune perte ne se manifesta par la suite et deux jours après la cane était guérie.

Je devais me rendre à l'évidence. Mais alors pourquoi les animaux inoculés au laboratoire ne bénéficiaient-ils pas, eux aussi, de ce traitement. Je ne me l'explique que par la différence du mode d'infection dans les basses cours et au laboratoire.

Il faut bien dire que nous ne sommes pas exactement fixés sur la manière dont les oiseaux contractent le choléra. Pasteur reconnaissait qu'il éprouvait de la difficulté à transmettre la maladie par ingestion.

J'ai tenté d'y parvenir en opérant de la manière suivante, après avoir constaté l'irrégularité des résultats obtenus par l'ingestion de cultures.

Une première poule est inoculée de choléra et succombe en



quinze heures. Une deuxième poule ingère 2 à 3 cent. cubes du contenu intestinal de la première et succombe en cinq à six jours.

Mais si je prends le contenu intestinal de cette deuxième poule pour le faire ingérer à une troisième, j'échoue presque régulièrement, et ce repas infectant (ou supposé tel) ne vaccine pas l'animal.

L'instillation de culture sur les yeux ne m'a pas donné de résultat.

J'ai transporté sans succès des poux de poule venant de succomber sur des poules neuves.

La scarification de la peau ne m'a pas toujours réussi.

On est donc encore réduit aux conjectures quant à la transmission de cette maladie qui pourtant fait des hécatombes dans les poulaillers infectés.

Cet état infectieux d'une basse-cour peut durer fort longtemps. J'ai eu l'exemple, à Grasse, d'un élevage décimé par le choléra. La vaccination enraya l'épizootie; mais chaque fois que l'on y introduisait de nouveau des volailles, même plusieurs mois après le dernier décès, la mortalité reprenait sur les nouveaux venus.

Faut-il attribuer la persistance de l'infection aux germes demeurés vivants dans les poulaillers malgré la désinfection? Je crois plutôt à la présence de porteurs de germes. Cette opinion est étayée par le fait suivant :

Un éleveur m'apporte un jour un couple de pigeons en parfaite santé, mais dont régulièrement les pigeonceaux succombent quelques jours ou quelques semaines après l'éclosion.

La femelle sacrifiée ne présente rien d'anormal. Seulement, l'ensemencement du sang donne une culture pure de choléra. En interrogeant le propriétaire, j'appris, qu'un an auparavant, l'élevage avait été décimé par une maladie qui n'avait pas été déterminée et que seul ce couple avait survécu.

En outre du fait de la persistance de la *pasteurella* aviaire dans l'organisme, ce cas est intéressant en ce qu'il nous montre que des parents porteurs de germes ne transmettent pas leur immunité à leurs descendants.

L'efficacité de la vaccination contre le choléra, pratiquée avec des cultures de *pasteurella* du lapin, paraissait établie

lorsqu'il me fut signalé que, dans certains élevages, la mortalité reprenait sur des animaux traités quelques mois auparavant. Il s'agissait de choléra contrôlé au laboratoire. L'immunité se montrait donc de durée insuffisante et je cherchai le moyen de la renforcer en préparant un véritable vaccin pastorien.

L'atténuation, à partir d'une souche de *B. avisepticus*, isolée d'une épizootie récente, s'effectua normalement au contact de l'air en suivant la technique indiquée par Pasteur. Seul le temps nécessaire à la transformation de la culture virulente en vaccin fut sensiblement plus long que celui indiqué par Le Maître. Le fait n'a rien d'extraordinaire et tient probablement à une différence dans la résistance des germes utilisés, comme cela se produit avec la bactériémie.

Je veux seulement mentionner une observation destinée à montrer combien il faut être prudent avant d'adopter un vaccin.

Après soixante-quinze jours d'atténuation, j'avais obtenu une culture-fille qui ne tuait plus la poule, ne la rendait pas sensiblement malade, et la vaccinait solidement contre une inoculation virulente. Quelle ne fut pas ma surprise en constatant qu'après cinq à six repiquages, mon vaccin avait repris assez de virulence pour tuer une poule sur trois (en sept à huit jours à la vérité) et affecter sensiblement les autres. Y avait-il retour à la virulence des germes atténués? Je ne le pense pas. Quelques rares microbes avaient dû se montrer moins sensibles à l'action de l'oxygène. D'abord noyés dans la masse des individus réellement atténués, ils ont dû se multiplier au cours des repiquages et finir par prédominer.

Ce qui corrobore cette manière de voir c'est que l'atténuation, reprise à partir de ces germes déjà en partie atténués, exigea encore un temps fort long, plusieurs mois, pour aboutir à la virulence voulue, qui cette fois se montra définitivement fixée.

J'aurais pu utiliser uniquement ce vaccin dans la pratique. Je préférerai pourtant continuer l'usage des cultures de *pasteurella* du lapin que j'employai dès lors comme premier vaccin, et faire suivre celui-ci d'un deuxième vaccin constitué d'une culture de *pasteurella* aviaire, dont l'atténuation fut mise en rapport avec la protection conférée par le premier vaccin.

Je trouvais à cette technique plusieurs avantages : d'abord

l'obtention d'une immunité très rapide, enrayant immédiatement l'épizootie; puis, la possibilité de sauver une partie au moins des volailles déjà atteintes.

Ces deux considérations sont de première importance en l'espèce. Il ne faut pas s'attendre, en effet, à ce que la vaccination de précaution soit appliquée par les éleveurs comme elle l'est contre le charbon.

Malgré la persistance assez longue des germes dans un élevage, les foyers infectieux finissent par s'éteindre complètement. Il n'y a pas ici de « champs maudits ». L'éleveur peut donc espérer, une fois la maladie disparue de sa basse-cour, ne plus avoir affaire à elle, au moins pendant de longues années. Il trouve dès lors inutile de supporter annuellement des frais assez élevés, si on tient compte de la valeur relativement faible de l'animal à vacciner.

Il faut donc un vaccin susceptible d'être inoculé sans danger en pleine épizootie; les cultures de *pasteurella* du lapin répondent à cette condition.

Enfin, l'immunité conférée par cette première intervention permet d'utiliser sans crainte, comme deuxième vaccin, une culture de *pasteurella* aviaire d'une virulence notable qui procurera une résistance durable.

Les résultats pratiques de cette double intervention, en œuvre depuis deux ans, ont confirmé pleinement les essais faits au laboratoire. Depuis qu'elle est appliquée, les recrudescences de mortalité ne se sont plus produites; trois ou quatre fois seulement, un retour offensif nous a été signalé: dans chaque cas, il résulta de l'enquête, faite auprès du vétérinaire, qu'au moment de la vaccination la diphtérie aviaire sévissait dans l'élevage en même temps que le choléra. Sans qu'on puisse tirer des conclusions formelles de ces cas trop peu nombreux, il y a dans cette coïncidence une indication intéressante à connaître. La revaccination enraya d'ailleurs immédiatement et définitivement la mortalité.



REMARQUE AU SUJET DE L'IDENTIFICATION DES CULTURES DE CHOLÉRA  
DES POULES ET DE TYPHOSE AVIAIRE.

J'ai indiqué avec Truche (1) un moyen fort pratique de différencier les germes de ces deux maladies. La confusion est possible entre les deux microbes pour quelqu'un qui ne manie pas journellement ces germes. Il s'agit de l'eau de levure dans laquelle Pasteur a montré que le bacille du choléra ne pouvait végéter. L'agent de la typhose au contraire y pousse abondamment.

A ce propos, de plusieurs côtés, il nous fut rapporté que le procédé était parfois en défaut. Je profite de cette occasion pour préciser un point de technique. L'ensemencement en eau de levure doit être fait en partant d'une trace de culture sur gélose, ou d'une goutte seulement de culture en bouillon. L'addition, en effet, de 1 cent. cube ou de 0 c. c. 5 de bouillon à un tube d'eau de levure suffit pour permettre la culture des *pasteurellæ*. Il n'y a pas dans l'eau de levure présence d'une substance empêchante, mais absence d'un aliment indispensable à ces microbes.

Jamais non plus on ne doit ensemer directement en eau de levure un produit pathologique comme le sang, la moelle osseuse, le foie.

En prenant cette précaution, nous n'avons pas encore rencontré une *pasteurella*, à quelque espèce qu'elle appartînt, capable de végéter en eau de levure.

(1) STAUB et TRUCHE, Diagnostic bactériologique du choléra des poules et de la typhose aviaire. *C. R. Soc. de Biol.*, 23 juin 1923.

## OBSERVATIONS SUR LES GLOBULES BLANCS DU SANG DANS LA FIÈVRE RÉCURRENTÉ

par M<sup>me</sup> E. V. KARTACHEFF.

(*Clinique du professeur G. Ph. Lang, Leningrad.*)

### I

Le but essentiel de mon travail fut l'étude des variations des proportions des globules blancs du sang dans la fièvre récurrente, au cours des diverses périodes de la maladie, ainsi que l'étude de différentes espèces de ces éléments, autant que cela était possible en se servant des préparations colorées, sèches, du sang des malades.

En étudiant les globules blancs sur préparations sèches du sang, j'ai fait une observation se rapportant à la question de l'élimination des spirilles pendant la crise dans la fièvre récurrente. Ce qui m'amènera à parler de la phagocytose au cours de la description des modifications des globules blancs dans cette maladie.

Le nombre des éléments figurés blancs était calculé d'après la formule leucocytaire habituelle sur préparations sèches, colorées par la solution de Giemsa. Pour plus de précision, nous avons évalué le nombre de polynucléaires neutrophiles d'après la formule d'Arneth, ainsi que le nombre absolu des leucocytes.

Le travail se divise en trois parties : formule d'Arneth dans la fièvre récurrente ; modifications des globules blancs dans cette maladie et observations sur la phagocytose.

J'ai évalué le nombre de globules blancs suivant la formule d'Arneth dans dix cas de fièvre récurrente en déterminant simultanément la formule leucocytaire habituelle.

Pour mes observations, j'ai pris les cas sans complications : tous, sauf un, aboutirent à la guérison. Mes malades furent des femmes âgées de dix-huit à quarante-cinq ans.

Je donne ci-après la courbe et le tableau n° 1 indiquant le nombre des globules suivant Arneth chez la malade de la fièvre récurrente n° 7 au moment des deux crises, des apyrexies, entre ces crises et dans les premiers jours de convalescence.

Le résultat du dénombrement dans ce cas fut le même que les résultats des 9 autres cas : pendant la crise, l'apyrexie et la première semaine de convalescence, il y eut un recul du tableau neutrophile vers la gauche suivant Arneth.

Il est facile de comprendre que, pendant la crise, en présence de la température élevée et des spirilles dans le sang, l'appareil sanguin se trouve dans un état d'excitation et de granulopoïèse intensifié. Les vieux polynucléaires périssent au commencement de la lutte; le sang périphérique reçoit de nouvelles quantités de cellules jeunes, qui n'ont pas le temps d'atteindre leur maturité dans ces conditions défavorables, et elles périssent.

Il est clair aussi que le recul du tableau neutrophile se produit également pendant l'apyrexie. L'apyrexie est une incubation précédant la crise; l'appareil sanguin excité n'a pas le temps de revenir à son état normal avant le commencement d'une nouvelle crise. Cela fait comprendre l'importance du recul du tableau neutrophile du sang durant les premiers jours de convalescence. Arneth base son observation sur la théorie de la lutte de l'organisme contre l'infection à l'aide de substances bactéricides défensives; d'après lui, le recul du tableau à gauche est l'indice de la destruction des polynucléaires et de la sécrétion simultanée de substances bactéricides dans le sang du malade. Ce raisonnement d'Arneth est juste jusqu'à un certain point quant à la fièvre récurrente. Déjà, en 1896, Gabritchewski a mis en lumière la présence de substances bactéricides dans le sérum sanguin des malades de la fièvre récurrente pendant l'apyrexie. En 1900, à Kazan, fut publié un travail de Melkikh dans lequel cet auteur montra que les substances bactéricides se trouvaient tout le temps dans le sérum des malades en quantités variables, suivant le moment de la maladie, et qu'elles y persistaient pendant les cinquante ou soixante jours qui suivent la guérison. Le maximum d'accumulation de substances bactéricides dans le sérum coïncide avec le moment d'apyrexie et le minimum avec la crise.

Si nous voulions représenter graphiquement le recul du





tableau neutrophile du sang vers la gauche pendant les diverses périodes de la fièvre récurrente suivant Arneth, nous obtiendrions une ligne droite; tandis que, d'après les données de Melkikh, l'accumulation de substances bactéricides dans la fièvre récurrente donne une courbe ondulée, dont les sommets des ondes tombent sur le deuxième ou troisième jour d'apyrexie, se croisant chaque fois dans leur montée avec la courbe de la température descendant le jour de la crise.

La courbe droite du recul du tableau neutrophile du sang vers la gauche, suivant Arneth, et la courbe ondulée de l'accumulation de substances bactéricides dans le sang des malades ne correspondent pas, durant toute les périodes de la maladie, avec la courbe de la température; elles se croisent avec elle comme si elles l'évitaient tout le temps. Cela conduit à penser que la victoire au moment de la crise n'appartiendrait pas aux substances bactéricides et, en tout cas, n'appartiendrait pas à ces substances seules. La formule d'Arneth ne présentant qu'un faible argument en faveur de la théorie humorale dans la fièvre récurrente est d'une grande valeur dans la même maladie à un autre point de vue. Elle nous fournit un moyen précis de juger de l'état de l'appareil sanguin, jour par jour, au point de vue de la granulopoïèse, en nous permettant de nous rendre compte de la lutte visible ou cachée de l'organisme contre l'infection, d'après le tableau du sang périphérique.

## II

En observant les éléments figurés blancs du sang des malades de la fièvre récurrente sur préparations sèches colorées, on est frappé de la présence des polynucléaires à protoplasme vacuolisé pendant la crise et l'apyrexie. Ces polynucléaires sont généralement « jeunes » avec un noyau simple ou bilobé.

Les monocytes et les lymphocytes présentent cette particularité qu'ils possèdent des excroissances, des pseudopodes. Les pseudopodes des monocytes et des lymphocytes indiquent une excitation du protoplasme de ces cellules, qui meurent probablement sur le verre au moment d'un mouvement actif. Voir tableau IV, figures 4, 5, 6 et 7; tableau V, figures 3, 5 et 6.

Parmi les monocytes, on trouve, dans le sang pendant la température élevée et pendant la période de la transpiration, de grandes cellules blanches, qui atteignent sur nos préparations de 40 à 70  $\mu$ . Le noyau de ces cellules ovale, avec des excavations, est riche en chromatine périphérique. Le protoplasme se colore souvent irrégulièrement; à un fort grossissement il paraît grossièrement granulé ou contenant beaucoup de vacuoles. Quelquefois le protoplasme présente une forme bizarre à pseudopodes. Par la coloration au Giemsa, on peut voir que ces cellules sont moins basophiles que d'autres cellules blanches du sang; les lymphocytes et les monocytes, inclus dans le protoplasme de ces géants, apparaissent dans ce cas comme des taches foncées sur un fond clair. La présence des lymphocytes, monocytes et érythrocytes dans le protoplasme de ces grandes cellules prouve que ces dernières jouent le rôle des macrophages.

Dans un cas de fièvre récurrente, que nous avons observé, le nombre de ces cellules pendant la période de transpiration a atteint 12 p. 100. Voir tableau IV et V.

En 1874, Ponfick signala pour la première fois la présence dans le sang des malades de la fièvre récurrente des cellules blanches décrites ci-dessus; il signala leur provenance de la rate. En 1875, Laptchinsky, en analysant le sang des malades de la fièvre récurrente, retrouva dans deux cas ces mêmes globules blancs; dans sa description, il parle de vacuoles dans le protoplasme, de pseudopodes et de cellules de grandes dimensions. Dans le courant de l'épidémie actuelle, peu de temps après que nous avions signalé la présence dans le sang périphérique de ces globules blancs, particuliers par leur aspect et leurs dimensions, ces cellules furent trouvées par le Dr M<sup>me</sup> O. P. Bykova au cours de ses recherches histologiques sur les cadavres des sujets atteints de fièvre récurrente, dans la moelle des os et dans la rate.

Autant qu'on peut en juger d'après les recherches récentes, et par analogie avec les modifications de l'appareil sanguin dans d'autres maladies infectieuses, nous estimons que ces cellules résultent de la multiplication des cellules de l'appareil réticulo-endothélial, comme réaction de l'organisme à l'excitation par les toxines.



## III

Si, comme nous l'avons dit plus haut, la formule d'Arneth présente un argument en faveur de la théorie humorale, la formule leucocytaire ordinaire, dans l'évaluation des rapports de différents éléments figurés blancs du sang pendant la crise de la fièvre récurrente, plaide pour la théorie phagocytaire (Voir tableau II).

TABLEAU II. — Fièvre récurrente, cas n° 7.

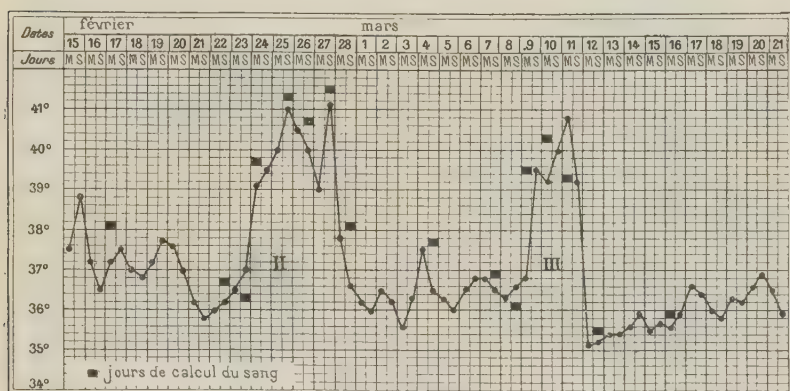
CRISE	DATE	TEMPÉRATURE	SPIRILLES	LEUCOCYTES p. 100	POLYNUCLÉAIRES p. 100	ÉOSINOPHILES p. 100	BASOPHILES p. 100	LYMPHOCYTES p. 100	MONOCYTES	CELLULES de Turek
II	17 février. .	N	—	5.944	48	1 1/2	—	32	15	3 1/2
	22 février. .	N	—	7.900	70	1	—	25	4	—
	23 février. .	37	+	11.722	73	—	—	20	6	1
	24 février. .	39,5	++	13.200	75	—	—	16	7	2
	25 février. .	41	++	7.899	70	—	—	25	4	1
	26 février. .	40,4	++	7.300	50	—	—	33	7	2
	27 février. .	41,1	++	6.422	59	—	—	30	10	1
	28 février. .	37,8	—	4.200	60	—	—	28	10	2
III	4 mars. . .	N	—	4.333	76	1 1/2	—	19	4	1/2
	7 mars. . .	N	—	7.111	69	1 1/2	—	25	4	1 1/2
	8 mars. . .	N	—	8.700	76	—	—	18	5	1
	9 mars. . .	39,5	+	9.311	61	—	—	28	10	1
	10 mars. . .	40	++	8.622	50	—	—	31	9	1
	11 mars. . .	39,2	+	7.000	40	—	—	48	11	1
	12 mars. . .	N	—	5.377	43	—	—	42	12	2 1/2
	16 mars. . .	N	—	4.933	54	—	—	35	10	1/2

Ce tableau présente le dénombrement d'éléments sanguins d'après la formule leucocytaire ordinaire, chez la même malade n° 7, chez laquelle le dénombrement fut parallèlement établi suivant la formule d'Arneth (tableau I et courbe de température p. 975).

Suivons les proportions quantitatives des monocytes et des polynucléaires neutrophiles chez notre malade au jour le jour pendant la dernière crise, du 9 mars au 12 mars. Ce qui attire l'attention, c'est que les nombres des polynucléaires neutrophiles diminuent dans le cours de la maladie et tombent pendant la crise, tandis que les nombres des monocytes restent

élevés, même après la crise. Cela devient surtout évident quand on évalue les quantités absolues des polynucléaires neutrophiles et des monocytes.

Dans son « Rapport à la Société thérapeutique de Pétersbourg sur l'importance des leucocytes dans la fièvre récurrente », le Prof. N. J. Tchistovitch communiqua une observation intéressante portant sur le dénombrement des éléments sanguins des malades pendant la crise de la fièvre récurrente : le nombre absolu des monocytes augmente dans le courant de la maladie, et même pendant la crise et ne diminue ensuite que progres-



Fièvre récurrente (cas n° 7).

sivement. On a supposé que l'augmentation de monocytose pendant la crise était en rapport avec la participation des monocytes dans la phagocytose. Cette supposition est basée sur des expériences. En 1899, pendant une épidémie de fièvre récurrente à Kazan, Savtchenko fit un travail où il était question, entre autres, des relations des monocytes avec les spirilles *in-vitro*.

On injectait dans le péritoine d'un cobaye, préalablement immunisé, 3 cent. cubes de bouillon. Le lendemain, on prenait une goutte de l'exsudat du péritoine riche en leucocytes et on mélangeait cette goutte avec du sérum sanguin contenant des spirilles de la fièvre récurrente et on l'examinait entre lame et lamelle. On faisait l'examen microscopique dans une chambre chauffée à 37°. Les phénomènes de la phagocytose, vus sous le microscope, sont notés dans le tableau III.

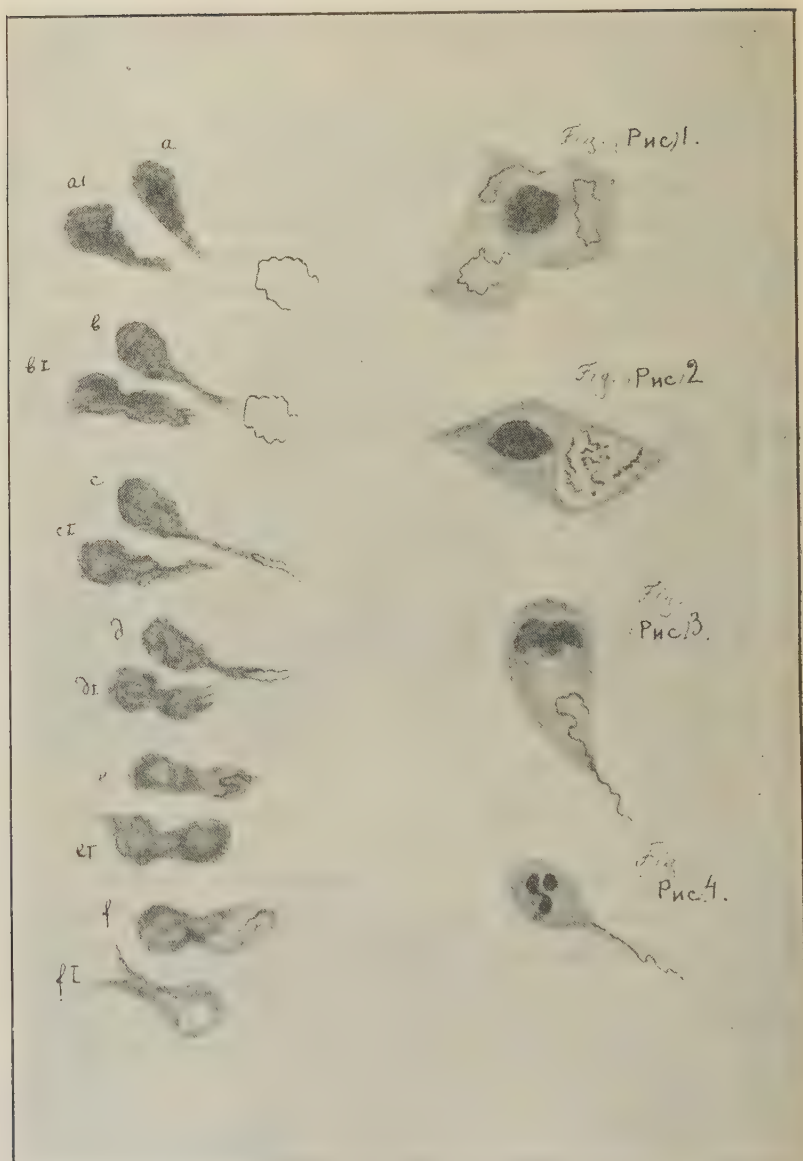


TABLEAU III.

Savtchenko les décrit de la manière suivante : « A côté de l'un des spirochètes se trouvent deux mononucléaires-cellules

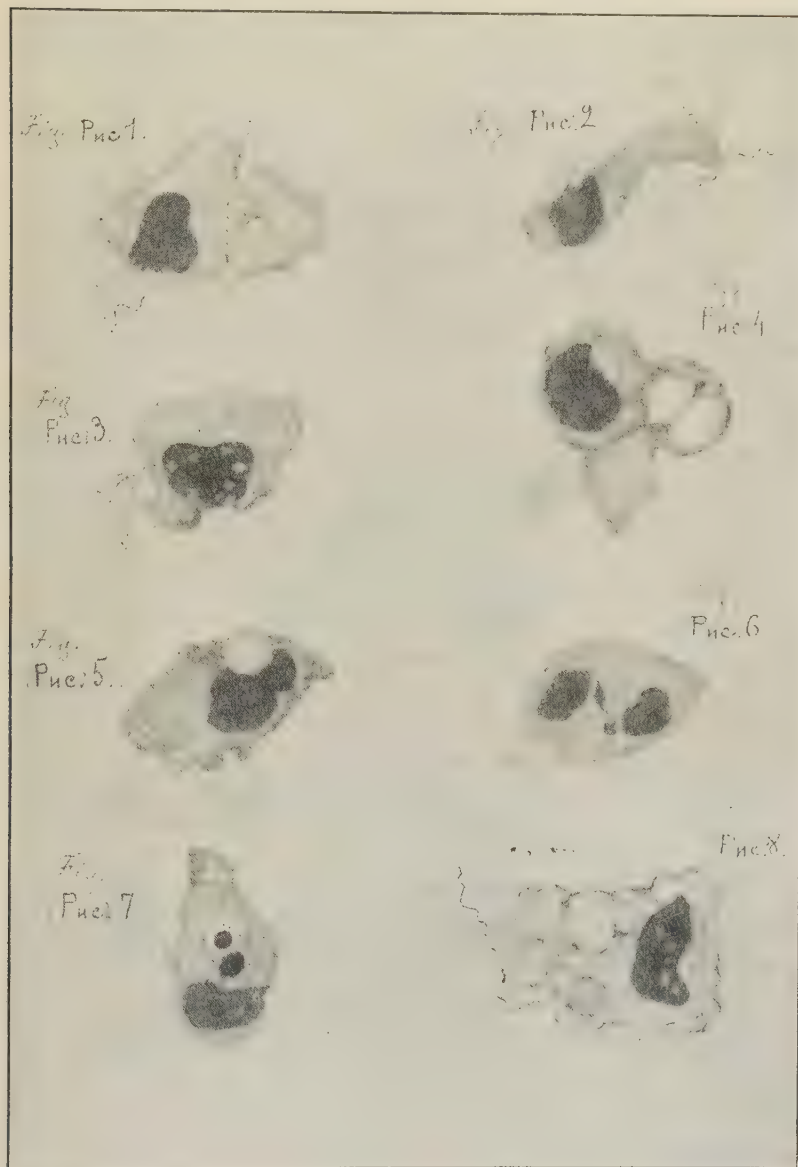


TABLEAU IV.

endothéliales détachées  $a$  et  $a'$ ; les deux cellules dirigent des excroissances vers le spirochète. La première cellule ( $a$ ,  $b$ ,



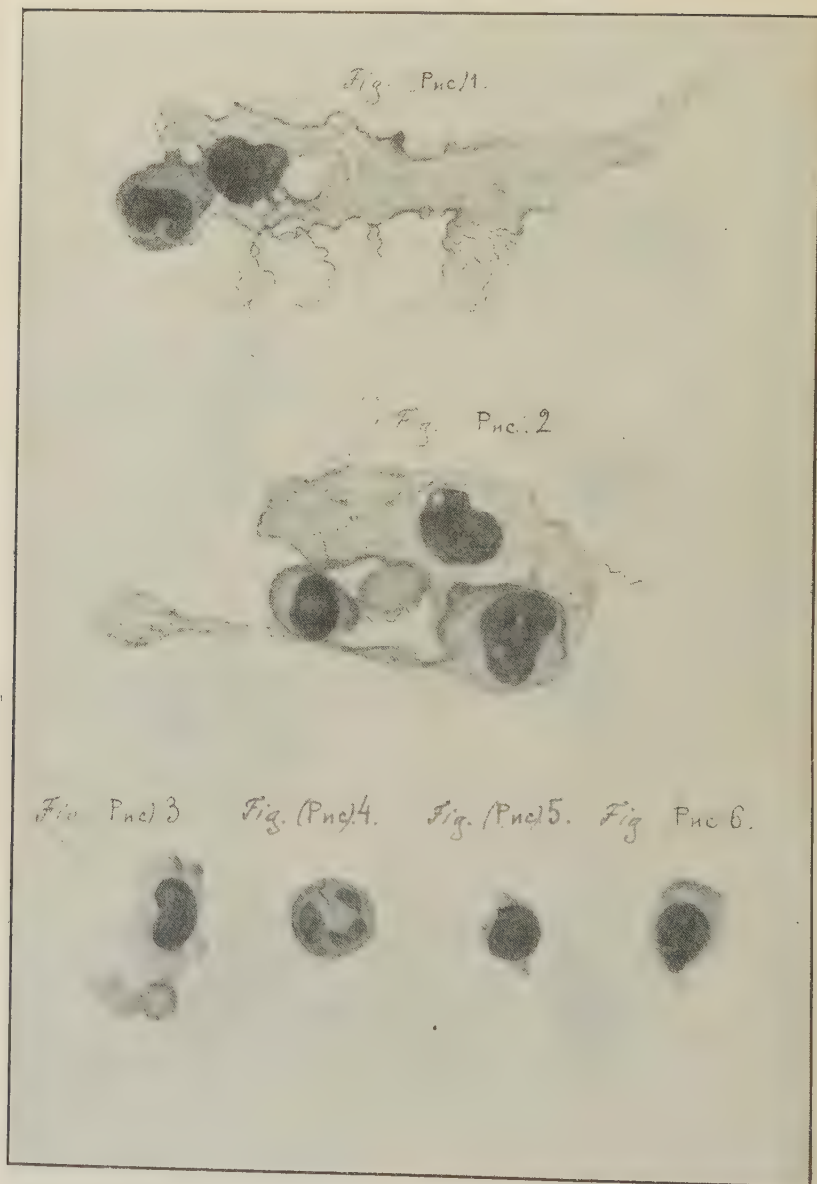


TABLEAU V.

c..., etc.) forme ses excroissances plus rapidement que la deuxième (a', b', c', etc.) et englobe le spirille. La façon d'être

de la deuxième cellule est bien curieuse. Tant que le spirille reste libre ou incomplètement englobé et qu'il peut encore produire une excitation spécifique sur la cellule, celle-ci continue à avancer vers lui et à émettre des pseudopodes, comme si elle les dirigeait vers le microbe (voir fig. *b I*, *c I*, *d I*). Quand le microbe fut entièrement englobé par la première cellule (fig. *c I* et *f I*) et par conséquent quand l'excitation cessa, la deuxième cellule (fig. *e* et *f*) ramassa ses pseudopodes et les émit du côté opposé; les cellules se comportaient comme s'il s'agissait de deux êtres supérieurs convoitant simultanément une même proie. »

Savtchenko colorait ses préparations avec le bleu d'aniline. Il obtenait les monocytes colorés en bleu dans les divers stades d'englobement des spirilles. Voir côté droit du tableau III, figures 1, 2, 3 et 4. La figure 4 représente un polynucléaire neutrophile englobant un spirille, ce qui est très rare, suivant Savtchenko. En parlant de la phagocytose des spirilles par les monocytes chez un cobaye immunisé, Savtchenko appelle ces monocytes « cellules endothéliales péritonéales détachées, ou macrophages ». Il signale que ces macrophages absorbent les spirilles avec une grande énergie. Certains de ces macrophages, dit-il plus loin, présentent à l'état frais des vacuoles sphériques à contenu trouble. Savtchenko fait une observation intéressante : ces cellules endothéliales vacuolisées présenteraient une grande ressemblance avec les cellules vacuolisées de la rate que Cantacuzène observa dans l'infection des oiseaux par les spirochètes; ces cellules contenaient aussi des spirochètes dans les vacuoles. Savtchenko paraît considérer les monocytes, cellules de l'appareil réticulo-endothélial, comme ayant le rôle de plus grands destructeurs des spirilles.

Rappelons ici encore les expériences connues de Soudakévitch sur les singes : après l'ablation de la rate infectée avec du sang de malades de fièvre récurrente, on trouvait dans la rate supplémentaire beaucoup de gros leucocytes-macrophages servant à la phagocytose (1891).

Nous avons dit plus haut que, sur les préparations du sang, on rencontrait des monocytes au protoplasme vacuolisé, quelquefois contenant des leucocytes et des érythrocytes à l'intérieur du protoplasme, ce qui montre que ces cellules jouent le rôle de

macrophages. Pour compléter la caractéristique de ces cellules, il nous reste à dire que, souvent, on les trouve littéralement envahies par les spirilles accolés à leur périphérie. Cette particularité attire l'attention quand on examine les préparations sèches, colorées, du sang. En parcourant la préparation on aperçoit des spirilles en grande quantité dans les sphères entourant les grandes cellules, tandis que, au voisinage des polynucléaires et des lymphocytes on ne les trouve que dans la moitié ou dans le tiers des cellules comptées.

En étudiant les relations entre les monocytes et les spirilles, sur les préparations sanguines, on observe divers stades de la phagocytose, comme on le voit sur nos tableaux. L'absorption partielle des spirilles est représentée par les figures 2 et 3 du tableau IV et la figure 4 du tableau V. Le tableau IV, figure 4, représente l'absorption complète. Le spirille, saisi partiellement par le monocyte, serpente autour de lui, en formant de grandes boucles, comme si, au moment de la lutte, il essayait de se libérer et de s'éloigner de la cellule. Les tortillons du spirille englobé par le monocyte sont légèrement aplatis; pour le reste, le spirille reste invariable ou est légèrement épaissi. Ces modifications extrêmement fines sont difficiles à représenter sur le dessin et ne sont nettement visibles que sur les préparations.

L'apparition des monocytes à la fin de l'accès et pendant la transpiration dans les divers stades de la phagocytose nous permet de trancher la question de l'importance des monocytes au moment de la crise : l'augmentation des monocytes dans le sang des malades de fièvre récurrente montre, comme le suppose N. J. Tchistovitch, que ces cellules prennent une certaine part à la phagocytose, car les polynucléaires y prennent part aussi; dans nos préparations nous trouvons, dans les cas isolés, des polynucléaires englobant des spirilles (tableau V, fig. 4).

L'englobement des spirilles de la fièvre récurrente par les polynucléaires fut observé, comme on le sait, par Metchnikov dans ses expériences, en 1887. Ce savant tuait les singes contaminés par la fièvre récurrente, au moment d'une crise, quand les spirilles disparaissent du sang périphérique, et il les retrouvait, en grande quantité dans la rate, englobés par les macrophages.

Dans le courant de l'épidémie de fièvre récurrente de 1922 j'ai examiné à peu près 700 préparations sèches, colorées, de sang des malades. Je n'ai vu que dans un très petit nombre de cas la phagocytose des spirilles par les monocytes et dans un nombre de cas encore plus petit la phagocytose par les polynucléaires neutrophiles. Savtchenko signale la difficulté de coloration des spirilles; d'après lui, le protoplasme des cellules, sur les préparations sèches, se colore, dans les conditions égales, mieux que les spirilles; si ces derniers subissent préalablement le phénomène de Pfeiffer, ils ne se colorent pas du tout.

Le fait que, dans ses préparations, Savtchenko a observé à l'intérieur des macrophages des spirilles bien colorés, s'explique, d'après lui, parce que les spirilles auraient été englobés vivants et en tout cas peu modifiés, avant d'avoir subi le phénomène de Pfeiffer. A l'intérieur des macrophages ils subissent une nouvelle transformation ou une action extracellulaire combinée des substances bactéricides défensives.

Tout cela montre qu'il faut un concours de conditions spécialement favorables pour trouver, dans les préparations sanguines, des leucocytes effectuant la phagocytose. Le spirille doit être englobé non modifié, sans avoir été touché par l'action dégradante des substances bactéricides, autrement il ne prend pas la coloration et nous ne pouvons pas le voir. Le protoplasme vacuolisé, ajouré, des grands monocytes, est aminci et se colore faiblement par la méthode de Giemsa. Ce qui présente une autre condition favorable, mentionnée par Savtchenko, c'est le fond clair du protoplasme sur lequel se détache le spirille englobé coloré, comme nous l'avons observé sur nos préparations en étudiant les divers stades de la phagocytose par les monocytes.

Ainsi, nous voyons que l'étude des proportions quantitatives des éléments figurés du sang blanc au moment de la crise, l'observation des leucocytes isolés et de leurs relations avec les spirilles sur les préparations colorées du sang des malades de fièvre récurrente, permettent de s'approcher cliniquement de la solution des questions qui sont depuis longtemps le but de nombreuses expériences. L'accolement des spirilles, précédant la crise, l'englobement des spirilles par les monocytes et les polynucléaires, nous démontrent avec évidence de quelles



façons compliquées et multiples l'organisme lutte dans la fièvre récurrente.

En terminant, je tiens à exprimer ma profonde gratitude au D<sup>r</sup> M<sup>me</sup> M. S. Sakovitch. Les dix femmes malades chez lesquelles j'ai évalué les formules leucocytaires d'Arneth et ordinaires durant toute la période de la maladie étaient à l'observation du D<sup>r</sup> Sakovitch. Elle évaluait tous les jours chez ces malades la quantité absolue des leucocytes et a aimablement mis à ma disposition ses résultats. Les préparations sanguines furent faites en même temps que le dénombrement leucocytaire.

#### EXPLICATION DES FIGURES :

Tableaux I, II, III sont expliqués dans le texte.

Tableaux IV et V. — Tous les leucocytes de ces tableaux ont été dessinés d'après les préparations. Agrandissement Zeiss apochr. Hom. Im. 2, ocul. VI, de plus agrandiss. 2 fois en préparant les tableaux. Les cellules des figures 1 et 2 du tableau V sont agrandies 3 fois.

Tableau IV. — Fig. 1, 2, 3, 4 et 8 représentent des monocytes géants dans les différents stades de phagocytose. Fig. 4 et 5, macrophage ayant englobé les érythrocytes; le protoplasme de ces cellules est inégalement coloré et possède des pseudopodes. Fig. 7, macrophage ayant englobé deux lymphocytes, dont les noyaux avaient subi la picnose. Figure 6, une forme plus rare du noyau bilobé chez les monocytes géants.

Tableau V. — Fig. 1, monocyte contre lequel sont accolés les spirilles. Certains spirilles sont englobés partiellement. Le protoplasme de la cellule est vacuolisé; à côté du noyau se trouve un leucocyte incomplètement englobé. Fig. 2, cellule blanche géante dans le protoplasme de laquelle est englobé un monocyte qui apparaît en tache sombre sur fond clair. Entre le pseudopode allongé et le corps de la cellule sont inclus un lymphocyte, un spirille et un érythrocyte. Fig. 3, 5 et 6, lymphocytes à pseudopodes. Fig. 4, un polynucléaire neutrophile contenant un spirille englobé.

## TABLE DES MATIÈRES

---

Sur l'anatoxine diphtérique et sur les anatoxines en général, par G. RAMON . . . . .	1
La phagocytose et les réactions des cellules dans l'immunité locale, par S. MÉTALNIKOV et K. TOUMANOFF . .	22
Comparaison du spirochète des rats d'Amsterdam avec une souche française de spirochétose ictéro-hémorragique, par C. BONNE. . . . .	35
Études sur le streptocoque gourmeux (5 <sup>e</sup> mémoire), par BROCC-ROUSSEU, FORGEOT et URBAIN . . . . .	45
Étude expérimentale de l'immunité locale oculaire, par P.-L. CARRÈRE . . . . .	67
Action comparée de l'eau distillée et du sérum physiologique sur la vitalité de quelques microbes, par L. PANISSET, J. VERGE et V. CARNEIRO . . . . .	80
Du rôle de la phagocytose dans l'action du bismuth sur les trypanosomes et les spirochètes, par R. SAZERAC et R. VAURS . . . . .	86
Essais de traitement de la tuberculose expérimentale du lapin et du cobaye par l'antigène méthylique, par L. NÈGRE et A. BOQUET . . . . .	101
Sur les facteurs des variations de <i>pH</i> dans les cultures de bacille diphtérique, par G. ABT et G. LOISEAU. .	114
Études sur l'autolyse microbienne. Acidification par formation d'acide $\beta$ -oxybutyrique, par LEMOINE. . .	144
Une réaction de floculation pour le diagnostic de la syphilis, par R. DUJARRIC DE LA RIVIÈRE et L. GALLE-RAND . . . . .	174
Microbes et vitamines, par P. GOY . . . . .	183
Action exclusive de l'arsenic (stovarsol) sur le paludisme à <i>plasmodium vivax</i> , par E. MARCHOEX. . . .	197

Sur la pathogénie du charbon dit « interne » ou « spontané », par C. SANARELLI . . . . .	209
Études sur la microbiologie du sol, par M. S. VINOGRADSKY . . . . .	299
Recherches sur la soi-disant réversibilité des actions diastatiques, par G. BERTRAND et A. COMPTON . . . .	355
Réaction de fixation du complément. Méthode rapide appliquée au diagnostic de la tuberculose, par J. VALTIS . . . . .	365
Floculation des sérums antiméningococciques en présence d'extraits alcooliques de méningocoques, par DUJARRIC DE LA RIVIÈRE et Et. ROUX . . . . .	369
L'ectoplasme bactérien. La capsule, par R. LEGROUX . .	382
Le carbone des peptones, source d'énergie pour le bacille diphtérique, par G. ABT . . . . .	387
Les streptocoques anaérobies, par A.-R. PRÉVOT . . . .	417
Expérience sur la conservation du virus pestique dans les peaux vertes, par H. SCHEIN et M. JACOTOT . . . .	448
Recherches sur la spécificité du rapport « toxique-antitoxique ». Utilisation en thérapeutique végétale, par C. PICADO . . . . .	462
Action <i>in vitro</i> de quelques substances chimiques sur le développement des bacilles tuberculeux, par L. KARWACKI et St. BIERNACKI . . . . .	477
Vaccination du cheval par l'anatoxine tétanique, par P. DESCOMBEY . . . . .	485
Recherches sur les coccidies et les coccidioses du lapin, par Ch. PÉRARD . . . . .	505
De la valeur pratique du neurovaccin, par le Dr GAILLARD . . . . .	543
Les vaccinations antirabiques à l'Institut Pasteur, en 1924, par J. VIALA . . . . .	559
Contribution à l'étude de l'étiologie des oreillons, par Y. KERMORGANT . . . . .	565
L'immunité des mites des abeilles ( <i>galeria mellonella</i> ) contre la tuberculose pendant les stades larvaires et la métamorphose, par I. MÉTALNIKOV . . . . .	629
Sur une méthode rapide de traitement antirabique, par le Dr Adolphe HEMPT . . . . .	632

Expériences de vaccination des singes contre la tuberculose par le BCG, par J. WILBERT . . . . .	641
Recherches sur la putréfaction <i>in vivo</i> , reproduction expérimentale des traumatoses putrides, par M. WEINBERG et B. GINSBOURG . . . . .	652
Étude expérimentale du traitement de la kératite pneumococcique par les sérums et les vaccins, par J. CHAILLOUS et L. COTONI . . . . .	684
Recherches sur l'importance physiologique comparée du fer et du zinc, par Gab. BERTRAND et H. NAKAMURA . . . . .	698
Sur un nouveau cas de mutations physiologiques chez la souris, par Gab. BERTRAND et H. NAKAMURA . . . . .	708
Typhose du rat et lésions chroniques nodulaires du poumon chez le rat, par I. GHEORGHIU. . . . .	712
Le problème de l'autolyse microbienne transmissible ou du bactériophage, par J. BORDET. . . . .	717
La réaction de fixation appliquée au diagnostic de la tuberculose des carnivores domestiques, par Ach. URRAIN . . . . .	764
Le bacille de Pfeiffer, agent de méningite cérébro-spinale, par Eug. URECH et Walter SCHNYDER. . . . .	769
Le virus rabique en Cochinchine, par J. BABLET. . . . .	783
Recherches sur la bactériophagie (Phénomène de Twort d'Hérelle), par E. WOLMANN. . . . .	789
Les microbes filtrables des voies respiratoires dans l'influenza et le coryza aigu, par L. BOEZ . . . . .	833
Lésions histologiques produites chez le cobaye par le b. histolytique, par D. COMBIESCO . . . . .	855
Sur la bactériolyse du gonocoque, par Alberto SCALTRIITI. . . . .	865
Sur la production de toxine diphtérique dans le bouillon Martin, par M.-S. SCHMIDT. . . . .	875
Action du bacille de Yersin sur les principaux hydrocarbures, par R. PONS . . . . .	884
De la cuti-vaccination et de la cuti-immunité dans le charbon, par A. P. NEWODOFF. . . . .	888
Recherches expérimentales sur le charbon, par Ch. HRUSKA . . . . .	897



Réaction des cellules et phagocytose chez le cobaye normal et immunisé, par S. MÉTALNIKOV et K. TOUMANOFF . . . . .	909
Le microbe de l'agalexie contagieuse du mouton et de la chèvre, par J. BRIDRÉ et A. DONATIEN . . . . .	919
Recherches sur les coccidies et les coccidioses du lapin, par Ch. PÉRARD . . . . .	952
Quatre années de vaccinations contre le choléra des poules, par A. STAUB. . . . .	962
Observations sur les globules blancs du sang dans la fièvre récurrente, par KARTACHEFF. . . . .	969

## TABLE ALPHABÉTIQUE PAR NOMS D'AUTEURS

---

ABT (G.) . . . . .	Le carbone des peptones, source d'énergie pour le bacille diphtérique . . . . .	387
ABT (G.) et LOISEAU (G.) . .	Sur les facteurs des variations de pH dans les cultures de bacille diphtérique . . . . .	114
BABLET (J.) . . . . .	Le virus rabique en Cochinchine . . .	783
BERTRAND (Gab.) et COMPTON (A.) . . . . .	Recherches sur la soi-disant réversibilité des actions diastasiques . . . .	353
BERTRAND (Gab.) et NAKAMURA (H.) . . . . .	Recherches sur l'importance physiologique comparée du fer et du zinc . .	698
—	Sur un nouveau cas de mutation physiologique chez la souris . . . . .	708
BIERNACKI (St.) et KARWACKI (L.) . . . . .	Action <i>in vitro</i> de quelques substances chimiques sur les développements des bacilles tuberculeux . . . . .	477
BOEZ (L.) . . . . .	Les microbes filtrables des voies respiratoires dans l'influenza et le coryza aigu . . . . .	833
BONNE (C.) . . . . .	Comparaison du spirochète des rats d'Amsterdam avec une souche française ictéro-hémorragique . . . . .	35
BOQUET (A.) et NÈGRE (L.) .	Essai de traitement de la tuberculose expérimentale du lapin et du cobaye par l'antigène méthylique. . . . .	102
BORDET (J.) . . . . .	Le problème de l'autolyse microbienne transmissible ou du bactériophage. .	717
BRIDRÉ et DONATIEN . . . .	Agalaxie contagieuse des brebis . . .	919
BROCQ-ROUSSEAU, FORGEOT et URBAIN (Ach.) . . . . .	Etudes sur le streptocoque gourmeux (cinquième mémoire). . . . .	45

CARNEIRO V. PANISSET (L.) et VERGE (J.). . . . .	Action comparée de l'eau distillée et du sérum physiologique sur la vitalité de quelques microbes. . . . .	80
CARRÈRE (P.-L.) . . . . .	Etude expérimentale de l'immunité lo- cale oculaire. . . . .	67
CHAILLOUS (J.) et COTONI (L.).	Etude expérimentale du traitement de la kératite pneumococcique par les sérum et les vaccins . . . . .	685
COMBIESCO (D.). . . . .	Lésions histologiques produites chez le cobaye par le b. histolytique. . . . .	855
COMPTON (A.) . . . . .	Voir Bertrand (Gab.).	
COTONI (L.) . . . . .	Voir Chaillos (J.).	
DESCOMBEY (P.) . . . . .	Vaccination du cheval par l'anatoxine tétanique . . . . .	485
DONATIEN . . . . .	Voir Bridré.	
DUJARRIC DE LA RIVIÈRE et GALLERAND (L.) . . . . .	Une réaction de floculation pour le diagnostic de la syphilis . . . . .	174
DUJARRIC DE LA RIVIÈRE (R.) et ROUX (Et) . . . . .	Floculation des sérums antiméningo- cocciques en présence d'extraits alcoo- liques de méningocoques. . . . .	368
FORGEOT . . . . .	Voir Brocq-Rousseu.	
GAILLARDO . . . . .	De la valeur pratique du neurovaccin .	543
GALLERAND (L.) . . . . .	Voir Dujarric de la Rivière (R.).	
GHEORGHU (I.). . . . .	Typhose du rat et lésions chroniques nodulaires du poumon chez le rat . .	712
GINSBOURG (B.) et WEINBERG (M.) . . . . .	Recherches sur la putréfaction <i>in vivo</i> . Reproduction expérimentale des trau- matoses putrides . . . . .	652
GOY (P.) . . . . .	Microbes et vitamines . . . . .	183
HEMPT (Ad.). . . . .	Sur une méthode rapide de traitement antirabique . . . . .	632
HRUSKA (Ch.) . . . . .	Recherches expérimentales sur le charbon.	897
JACOTOT (M.) et SCHEIN (H.).	Expériences sur la conservation du virus pestique dans les peaux vertes.	448
KARTACHEFF. . . . .	Observations sur les globules blancs dans la fièvre récurrente . . . . .	969
KARWACKI (L.). . . . .	Voir Biernacki (St.).	
KERMOGRANT (Yves). . . . .	Contribution à l'étude de l'étiologie des oreillons. . . . .	565
LEGROUX (R.) . . . . .	L'ectoplasme bactérien. La capsule . .	382
LEMOINE. . . . .	Etudes sur l'autolyse microbienne. Aci- dification par formation d'acide $\beta$ -oxy- butyrique . . . . .	144

## TABLE ALPHABÉTIQUE PAR NOMS D'AUTEURS

989

LOISEAU (G.). . . . .	Voir Abt (G.).	
MARCHOUX (E.). . . . .	Action exclusive de l'arsenic (stovar-sol) sur le paludisme à <i>plasmodium vivax</i> . . . . .	197
METALNIKOV (I.). . . . .	L'immunité des mites des abeilles ( <i>galleria mellonella</i> ) contre la tuberculose pendant les stades larvaires et la métamorphose. . . . .	629
METALNIKOV (S.) et TOUMANOFF (K.). . . . .	La phagocytose et les réactions des cellules dans l'immunité locale. . . . .	22
—	Réaction des cellules et phagocytose chez le cobaye normal et immunisé .	909
NAKAMURA. . . . .	Voir Bertrand (Gab.).	
—	Voir Bertrand (Gab.).	
NÈGRE (L.). . . . .	Voir Boquet (A.).	
NEWODOFF (A. P.). . . . .	De la cuti-vaccination et de la cuti-immunité dans le charbon . . . . .	888
PANISSET (L.). . . . .	Voir Carneiro (V.).	
PÉRARD (Ch.). . . . .	Recherches sur les coccidies et les coccidioses du lapin . . . . .	503
—	(Troisième mémoire). . . . .	952
PICADO (C.). . . . .	Recherches sur la spécificité du rapport « toxique antitoxique » (Utilisation en thérapeutique végétale). . . . .	462
PONS (R.). . . . .	Action du bacille de Yersin sur les principaux hydrocarbures . . . . .	884
PRÉVOT (A.). . . . .	Les streptocoques anaérobies . . . . .	417
RAMON (G.). . . . .	Sur l'anatoxine diphtérique et sur les anatoxines en général . . . . .	1
ROUX (El.). . . . .	Voir Dujarric de la Rivière (R.).	
SANARELLI (G.). . . . .	Sur la pathogénie du charbon dit « interne » ou « spontané » . . . . .	209
SAZERAC (R.) et VAURS (R.). . . . .	Du rôle de la phagocytose dans l'action du bismuth sur les trypanosomes et les spirochètes . . . . .	86
SCALTRITTI (Alb.). . . . .	Sur la bactériolyse du gonocoque . . . . .	865
SCHEIN (H.). . . . .	Voir Jacotot (M.).	
SCHMIDT (M. S.). . . . .	Sur la production de toxine diphtérique dans le bouillon Martin. . . . .	875
SCHNYDER (W.) et URECH (Eug.). . . . .	Le bacille de Pfeiffer agent de méningite cérébro spinale. . . . .	769
STAUB (A.). . . . .	Quatre années de vaccination contre le choléra des poules . . . . .	962
TOUMANOFF (K.). . . . .	Voir Métalnikov (S.).	
TOUMANOFF (H.). . . . .	Voir Métalnikov (S.).	



URBAIN (Ach.) . . . . .	La réaction de fixation appliquée au diagnostic de la tuberculose des carnivores domestiques . . . . .	764
—	Voir Brocq-Rousseu.	
URECH (Eug.) . . . . .	Voir Schnyder (W.).	
VALTIS (J.) . . . . .	Réaction de fixation du complément. Méthode rapide appliquée au diagnostic de la tuberculose . . . . .	365
VAURS (R.) . . . . .	Voir Sazerac (R.).	
VERGE (J.) . . . . .	Voir Carneiro (V.).	
VIALA (J.) . . . . .	Les vaccinations antirabiques à l'Institut Pasteur en 1924. . . . .	559
WEINBERG (M.) . . . . .	Voir Ginsbourg (B.).	
WILBERT (J.) . . . . .	Expériences de vaccination des singes contre la tuberculose par le BCG . . . . .	641
WINOGRADSKY (M. S.) . . . . .	Etudes sur la microbiologie du sol. . . . .	299
WOLLMANN (E.) . . . . .	Recherches sur la bactériophagie (Phénomène de Twort d'Hérelle). . . . .	789

Le Gérant : G. MASSON.

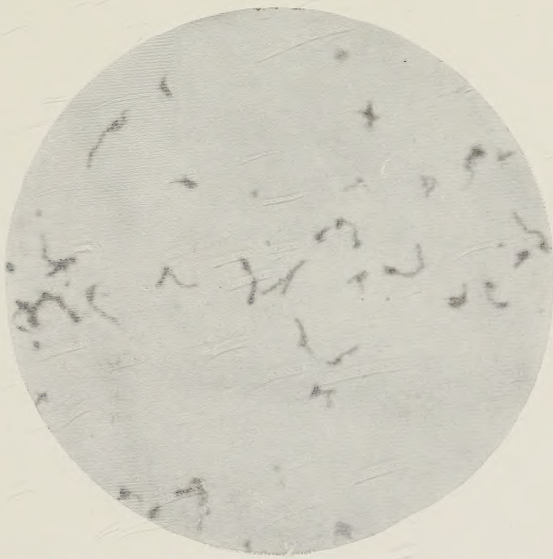


FIG. 1. — Culture en bouillon-sérum. Formes communes.

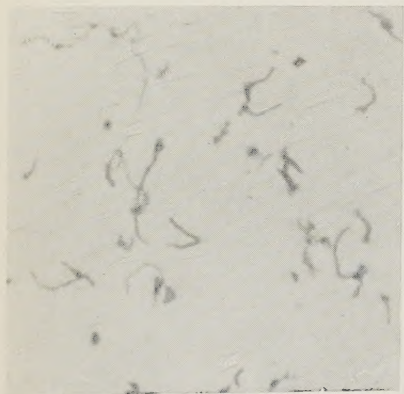


FIG. 2.

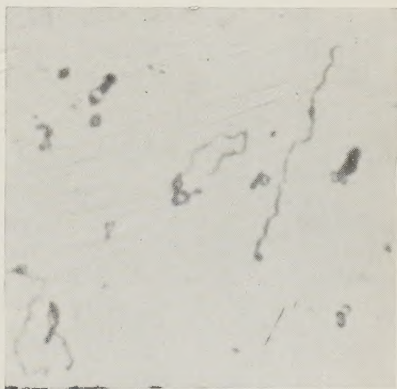


FIG. 3.

Cultures en bouillon-sérum. Formes longues.  
Photomicrographies de P. Jeantet. Gross. : 1.850 diam.

